

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N°

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
PROTÉINATE D'ARGENT

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le juillet 1930

PAR

Eva BLOT

Pharmacien

Lauréate de la Faculté de Paris

JURY { MM. LEBEAU, *Président*
DAMIENS, *Professeur*
FABRE, *Professeur agrégé*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15 RUE RACINE, 15

1930



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N°

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

PROTÉINATE D'ARGENT

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le juillet 1930

PAR

Eva BLOT

Pharmacien

Lauréate de la Faculté de Paris

JURY { MM. LEBEAU, *Président*
DAMIENS, *Professeur*
FABRE, *Professeur agrégé*

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15 RUE RACINE, 15

—
1930

Personnel de la Faculté de Pharmacie



ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
 PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
 G. DURSANT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des médi- caments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, Membre de l'Institut, O. ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie.
LAUNOY, ✱, ☉ I.	Pharmacodynamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	MM. PICON, ☉ I.
LUTZ, ✱, ☉ I.	FABRE, ☉ A.
LAUNOY, O. ✱, ☉ A.	MASCRÉ, ☉ I.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.	BACH, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. FABRE, ☉ A. et FLEURY, ☉ I. *agrégés*,
 chargés des travaux de Chimie analytique.

SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie.

HERISSEY, O. ✱, ☉ I., DELABY, ✱, ☉ A., et PICON, ☉ I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

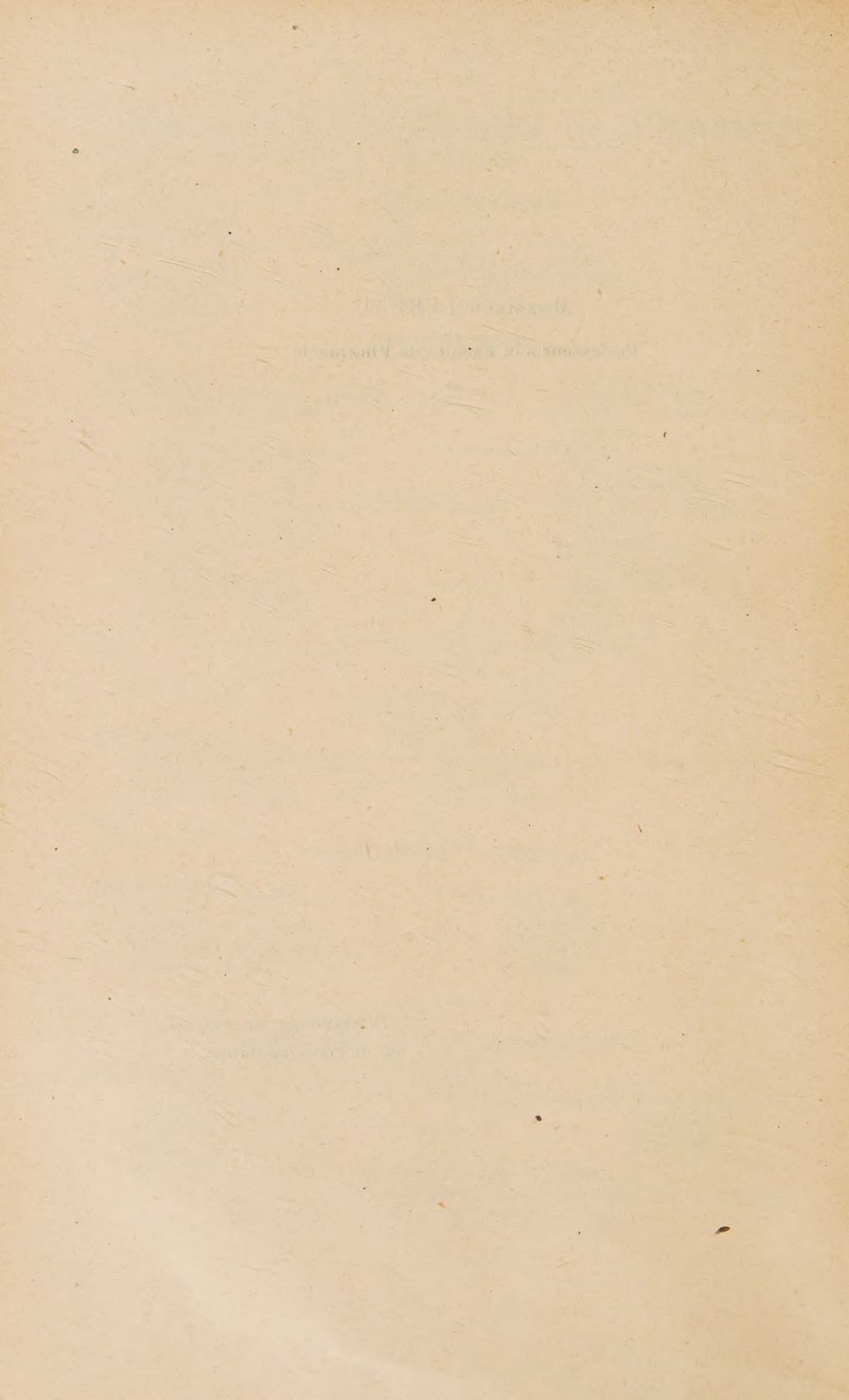
Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A

MONSIEUR LEBEAU

Professeur à la Faculté de Pharmacie

*Témoignage de respect
et de reconnaissance.*



A

MONSIEUR DAMIENS

Professeur à la Faculté de Pharmacie

Témoignage de profonde gratitude.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
PROTÉINATE D'ARGENT

INTRODUCTION

Parmi les composés d'argent colloïdal dont l'emploi en thérapeutique s'est beaucoup étendu pendant ces dernières années, le protéinate d'argent, spécialisé sous le nom de Protargol, tient une place importante. Toutes les préparations du commerce ont un titre en argent voisin de 8 %, mais elles diffèrent les unes des autres par leur aspect et par certaines de leurs propriétés.

Beaucoup de pharmacopées mentionnent un protéinate d'argent. Elles indiquent des réactions analytiques permettant de caractériser le produit, et fixent le taux d'argent qu'il doit contenir ; mais elles négligent le plus souvent l'état colloïdal dont dépend dans une certaine mesure l'action médicamenteuse.

Il est nécessaire de bien connaître ces produits qui sont d'un emploi de plus en plus courant comme antiseptiques. On les utilise en solutions qui doivent rester actives en présence des liquides de l'or-

ganisme. Un protéinate d'argent doit donc répondre à certaines conditions de stabilité pour être efficace.

Nous avons entrepris l'examen minutieux d'échantillons des produits commerciaux les plus répandus en France, cette étude ayant pour but de préciser, tant au point de vue chimique qu'au point de vue de l'état colloïdal, les propriétés que devrait posséder un protéinate d'argent officinal.

Notre travail se compose d'une première partie, consacrée à la bibliographie, ainsi divisée :

- I. Historique.
- II. Préparation.
- III. Propriétés.
- IV. Indications des pharmacopées.
- V. Méthodes d'analyse.
- VI. Indications relatives à l'état colloïdal.
- VII. Mesures de la concentration en ions argent.

Dans la seconde partie sont exposés les résultats que nous avons obtenus. Elle comprend les chapitres suivants :

- I. Analyse qualitative et quantitative des échantillons commerciaux.
- II. Examen des solutions : Numération des particules. Essais de conservation.

Avant d'aborder l'exposé de cette thèse, nous tenons à remercier M. le Professeur Lebeau de nous avoir accueillie avec bienveillance dans son laboratoire. Sa direction éclairée a facilité notre travail,

et nous lui en sommes profondément reconnaissante.

Nous devons beaucoup aussi à M. le Professeur Damiens qui a guidé nos recherches et nous a prodigué ses encouragements et ses précieux conseils. Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici notre vive reconnaissance pour l'affectueux intérêt avec lequel il a suivi l'exécution de ce travail.

PREMIÈRE PARTIE

I. — HISTORIQUE

Les combinaisons d'argent et de matières protéiques dont le type est le Protargol, ont été obtenues d'abord par Eichengrün (1) en 1897. Pour remplacer le nitrate d'argent, on avait déjà introduit dans la thérapeutique des composés tels que l'Argentamine, combinaison d'éthylènediamine avec du phosphate d'argent, et l'Argonine ou caséinate d'argent, le premier découvert en 1894, et le second en 1895. Ces corps se distinguent des sels d'argent par le fait qu'ils ne précipitent pas par les matières albuminoïdes. Il en résulte que lorsqu'ils sont introduits dans un liquide de l'organisme, ils ne flocculent pas sur place et peuvent se répandre en produisant leur effet antiseptique.

Eichengrün définit les corps qu'il a découverts comme des « combinaisons d'argent obtenues à l'aide « de certaines matières protéiques, qui contiennent « l'argent non seulement sous forme dissimulée,

1. Eichengrün, *Pharm. centralhalle*, t. 36, p. 639, 1897.

« mais de plus engagé dans une combinaison organique. » Il ne donne aucune indication sur la préparation de ces composés, mais mentionne que le plus important d'entre eux, le Protargol, est fabriqué par les « Farbenfabriken vormals Fr. Bayer » à Elberfeld.

En 1883 Loew (1) avait déjà indiqué la préparation de composés d'argent albuminoïdique dans lesquels l'argent était masqué. Il chauffait de l'albuminate d'argent avec une solution ammoniacale de nitrate d'argent. Par neutralisation au moyen d'acide sulfurique, il précipitait un corps contenant 32,2 % d'argent. En ajoutant de la potasse caustique au mélange ammoniacal de nitrate d'Argent et d'albumine, la teneur en argent du produit obtenu était plus élevée. Plus tard Loew (2) a prétendu que les composés du type du Protargol étaient identiques à ceux qu'il avait lui-même étudiés auparavant, mais Eichengrün (3) a montré que des différences chimiques essentielles distinguaient les deux classes de corps.

Les composés préparés par Loew sont instables ; ils sont précipités de leurs solutions par l'action de la chaleur, des acides et des alcalis dilués. Ils ne représentent pas un produit déterminé, puisque, suivant les conditions de préparation, ils renferment de 32,2 % à 82,4 % d'argent. Il s'agirait,

1. Loew, *Ber. deutsch. chem. gesell.*, t. 16, p. 2707, 1883.

2. Loew, *Chem. Zeitg.*, t. 21, p. 876, 1897.

3. Eichengrün, *Chem. Zeitg.*, t. 21, p. 940, 1897.

d'après Eichengrün, de combinaisons de quantités variables d'argent moléculaire avec de l'argent albuminoïdique partiellement oxydé. Le Protargol serait par contre d'après le même auteur, un corps de composition constante. Sa teneur en argent solidement combiné à la matière albuminoïde est fixe et égale à 8,3 %. Ses solutions ne sont pas précipitées par les alcalis, les sulfures alcalins, l'albumine et le chlorure de sodium ; elles ne le sont pas non plus par les acides. L'acide chlorhydrique concentré donne cependant un précipité, mais celui-ci n'est pas constitué par du chlorure d'argent, il s'agit de Protargol non transformé qui peut être remis en solution dans l'eau.

II. — PRÉPARATION

Les brevets déposés par les Farbenfabriken v. Fr. Bayer en Allemagne (1) et par leurs correspondants aux Etats-Unis (2) et en Angleterre (3) ont donné des indications relatives à la préparation du Protargol. Ce produit résulte du traitement, par des solutions d'albumoses, des composés insolubles obtenus par l'action des sels d'argent sur les corps protéiques.

D'après le brevet original, on verse la solution d'une matière albuminoïde dans une solution d'un sel d'argent. Le précipité obtenu est lavé et mis à digérer dans une solution d'albumose ; il s'y dissout et le nouveau composé formé est isolé par évaporation dans le vide ou par précipitation au moyen d'alcool. Ce corps séché et pulvérisé constitue une poudre jaune brun, instantanément soluble dans l'eau, et qui est le Protargol. On peut employer pour la préparation une substance protéique quelconque, l'albumine d'œuf, les albumines végétales, les albumoses et les peptones. L'oxyde d'argent

1. D. R. P., 105.886, 1897.

2. U. S., 615.970, 1897.

3. E. P., 18.478, 1897.

peut intervenir à la place des sels d'argent, et la combinaison insoluble de protéine et d'argent est transformée en Protargol au moyen d'albumose qui peut être par exemple de la protalbumose ou de la deutéroalbumose, ou bien un mélange d'albumoses solubles.

Le texte du brevet allemand comprend les deux exemples suivants :

1° « On verse lentement et en agitant une solution moyennement concentrée de 1 kg. de peptone, dans une solution à 10 % de nitrate d'argent. Le précipité ainsi obtenu est filtré, lavé à l'eau, et quand il est encore humide, on le place dans 2 kg. d'une solution chaude à 50 % de protalbumose. Si l'on fait alors digérer le mélange pendant quelque temps au bain-marie, le précipité de peptone et d'argent passe en solution. Celle-ci est évaporée à sec dans le vide. Le résidu est pulvérisé et se présente alors sous forme de poudre brune, facilement soluble dans l'eau. »

2° « On dissout 1 kg. de peptone dans de l'eau, on filtre la solution et on l'agite avec de l'oxyde d'argent humide. Dans ces conditions la poudre d'oxyde d'argent qui est de couleur foncée disparaît peu à peu, tandis que la combinaison de peptone et d'argent se sépare en formant un volumineux précipité blanc. Quand tout l'oxyde d'argent a disparu, on filtre et on lave le précipité avec de l'eau. On le met, encore humide, dans 5 kg. d'une solution à 50 % de protalbumose et l'on fait digérer

« le mélange jusqu'à formation d'une liqueur claire.
« A partir de cette dernière, on obtient la nouvelle
« combinaison soluble d'argent protéinique en pré-
« cipitant par de l'alcool. Après le séchage, elle
« forme une masse jaunâtre facilement pulvérisable
« qui se dissout dans l'eau avec une grande faci-
« lité. »

Une transformation de ce procédé, donnée par un supplément (1) au brevet original, est aussi indiquée par les brevets anglais et américain déjà cités. On emploie dans ce cas, pour la première partie de la préparation, les composés solubles obtenus par l'action de l'aldéhyde formique sur les corps protéiques (2) de la manière suivante : une solution aqueuse concentrée et froide d'une substance albuminoïde naturelle, est mélangée avec de petites quantités d'aldéhyde formique. Après vingt-quatre heures la dissolution est accomplie et se présente sous forme d'une masse gélatineuse que l'on sèche à basse température. Le résidu pulvérisé est une poudre jaunâtre soluble dans l'eau, qui constitue le dérivé méthylénique de l'albumine employée.

Ces dérivés servent à préparer des combinaisons d'argent ayant les mêmes caractéristiques que les combinaisons obtenues d'après le brevet principal. Voici un des exemples décrits par ce supplément :

« A une solution de 100 grammes de composé
« méthylénique d'albumine, dans 300 grammes

1. D. R. P. 118.353.

2. D. R. P. 102.458.

« d'eau, on ajoute une solution aqueuse à 20 % de
« nitrate d'argent (ou de l'oxyde d'argent humide
« préparé avec 50 grammes de nitrate d'argent),
« jusqu'à ce qu'il y ait de l'argent en excès. Le pré-
« cipité de méthylène-albumine-argent qui en résulte,
« est lavé pour enlever l'excès d'argent, puis placé
« dans une solution de 100 grammes de protalbu-
« mose pour 100 grammes d'eau, et autant que pos-
« sible dissous en agitant et en chauffant légèrement.
« La solution filtrée est ensuite précipitée par l'alcool,
« puis on sèche le précipité pulvérulent. »

Parmi les nombreux auteurs qui, plus tard, ont étudié l'argent protéinique, deux seulement se sont occupés de la préparation. Chemnitius (1) a donné en 1926 un procédé reposant sur le principe suivant : on hydrolyse à l'autoclave de la gélatine débarrassée de chlorures ; cette opération doit être poursuivie pendant trois heures et demie ou quatre heures. Elle est terminée quand une prise d'essai de la liqueur reste liquide même après refroidissement par de la glace. Le liquide bouillant est décomposé par un mélange, en proportions calculées, de soude et de bicarbonate de sodium ou de composés correspondants de potassium. Il se produit un vif dégagement d'ammoniaque et de gaz carbonique. A la fin de la réaction, le liquide est chauffé de nouveau et abandonné pendant deux jours pour qu'il s'éclaircisse, puis on l'évapore à consistance sirupeuse.

1. Chemnitius, *Chem. Zeitg.*, t. 50, p. 958, 1926.

Une quantité connue de ce résidu d'évaporation est traitée au bain-marie par une quantité déterminée d'une solution concentrée de nitrate d'argent. Il se forme un produit brun à réaction alcaline que l'on décolore par addition de 10 % d'une solution d'eau oxygénée à 3 %. La masse est séchée dans le vide. On détermine la teneur en argent du produit pulvérisé et tamisé, et l'on ajoute soit de la dextrine, soit une autre préparation à un titre inférieur, en vue de réaliser le titre officinal.

Schwyzer (1) définit le protéinate d'argent comme un mélange d'anhydroprotalbinat de sodium et d'argent avec de l'acide lysalbinique, et il en indique la préparation. Il donne d'abord le moyen d'obtenir les constituants, l'acide protalbinique et l'acide lysalbinique, à partir de l'albumine d'œuf ou de la caséine du lait, mais il déconseille l'emploi de l'albumine du sang qui ne permet pas de préparer ces acides purs.

La préparation des acides protalbinique et lysalbinique peut se résumer ainsi : de la caséine de lait (200 grammes) est mélangée à 500 cc. d'eau et 100 grammes de lessive de soude de densité égale à 1,30, puis chauffée au bain-marie vers 85° ou 90° pendant deux heures ou deux heures et demie. La transformation en acides protalbinique et lysalbinique est alors achevée ; on dilue à 900 cc., on filtre après refroidissement à 15° au maximum et

1. Schwyzer, *Pharm. Zeitg.*, t. 73, p. 1548, 1928.

on précipite l'acide protalbinique par de l'acide nitrique. L'acide protalbinique séparé, est privé des traces d'eaux-mères qu'il renferme, en le mélangeant à trois reprises avec son poids d'eau distillée, que l'on exprime chaque fois. La solution renferme l'acide lysalbinique en présence d'acide nitrique, de nitrate de sodium et de quelques impuretés. On la neutralise au moyen d'ammoniaque et on la soumet à la dialyse dans un sac de parchemin. Au bout de cinq jours la solution ne renferme plus que de l'acide lysalbinique ; on le constate en évaporant et calcinant une portion de cette liqueur : le poids des cendres doit être inférieur à 1 % de celui du résidu sec. On conserve cette solution dans une glacière.

Pour préparer alors le protéinate d'argent, on fait du protalbinate de sodium. On délaye la pâte d'acide protalbinique dans son poids d'eau et on y ajoute de la soude à 15 % exempte de chlore, par fractions de 1 cc. jusqu'à neutralité à la phénolphtaléine. La solution de protalbinate de sodium doit être titrée au point de vue de l'alcalinité et de la teneur en acide protalbinique. Une goutte de solution alcoolique de phénolphtaléine ne doit prendre qu'une teinte rose faible pour 1 cc. de la solution dilué dans 10 cc. d'eau. La détermination de la teneur en acide protalbinique se fait en évaporant à sec une quantité connue dans un récipient taré. On amène la liqueur au titre de 10 % d'acide protalbinique.

500 grammes de la solution de protalbinat de sodium sont additionnés à froid de 27 grammes d'une solution à 30 % de soude privée de chlore, puis de 25 grammes de nitrate d'argent dans 50 cc. d'eau. Il se forme un précipité gélatineux de protalbinat d'argent. On chauffe ensuite à 75 ou 80° ; à cette température le précipité se dissout, par suite de la production d'un protalbinat d'argent et de sodium soluble. On dialyse cette solution pour éliminer la soude et le nitrate de sodium en excès. Une portion de la solution dialysée est desséchée pour permettre de déterminer son titre, puis on calcine. Dans le résidu on dose l'argent en le dissolvant au moyen d'acide nitrique, et en titrant au sulfocyanure. La solution nitrique des cendres doit être limpide ; s'il y avait des traces de chlorure d'argent, il y aurait des flocons insolubles, et ce chlore serait dû aux impuretés des matières premières. La teneur en argent est retranchée du poids du résidu total de la calcination ; on obtient ainsi le poids de soude contenue dans les cendres. On doit trouver environ 30 % d'argent, à côté de 2 % de sodium fixé à l'acide protalbinique.

La dialyse est suffisante si la solution diluée ne se colore que faiblement par addition de deux ou trois gouttes de solution de phénolphtaléine.

On réunit alors la solution argentique avec celle d'acide lysalbinique, en proportions calculées pour obtenir du protéinate d'argent titrant 8 à 8,3 % d'argent. On dessèche le mélange sur des plaques

de verre ou de porcelaine, soit dans une étuve à 40 ou 50°, soit dans le vide à 20 ou 30°. Le résidu pulvérisé est une poudre brun clair renfermant 8 % d'argent et laissant 9 à 9,5 % de résidu au rouge.

Avec l'albumine d'œuf on peut réaliser une préparation analogue, mais l'auteur signale que le soufre contenu dans cette matière première donne de l'hydrogène sulfuré qu'il faut éliminer pour éviter la formation de sulfure d'argent. Il explique ensuite les raisons qui justifient ce qui a été dit précédemment. L'acide lysalbinique ne permet pas d'obtenir un composé à 30 % d'argent soluble dans l'eau. On ne peut pas préparer directement un composé à 8 % d'argent, car le produit ainsi formé avec de l'acide protalbinique, donne sous l'action de l'acide chlorhydrique, un précipité qui n'est pas soluble dans un excès d'acide, contrairement à ce que la pharmacopée allemande exige. Avec l'acide lysalbinique, un protéinate préparé immédiatement à 8 % d'argent donne 14 % de cendre, ce qui est trop élevé.

Schwyzler indique enfin les caractères qui, d'après ses travaux, devraient être exigés par toutes les pharmacopées : Le résidu de la calcination doit être au maximum de 10 % dont 8 % d'argent. Le précipité obtenu en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique à une solution à 2 % doit se redissoudre après addition de 7 cc. d'acide. Une solution à 0,5 % ne doit pas se colorer en rose quand on y ajoute quelques gouttes de solution alcoolique de

phénolphtaléine. La solution nitrique des cendres doit être limpide.

Cette préparation peut être appliquée industriellement ; l'auteur décrit les appareils à employer et le mode opératoire.

Les pharmacopées auxquelles est inscrit le protéinate d'argent ne disent rien au sujet de sa préparation. On peut lire seulement à la pharmacopée mexicaine de 1904 que cet albuminate d'argent est préparé par le procédé patenté de Eichengrün, et dans la dernière édition de cette pharmacopée, parue en 1925, que la préparation est industrielle.

III. — PROPRIÉTÉS

Les principales propriétés du Protargol ont été décrites par Eichengrün. Ce produit est une poudre jaune, très fine, facilement soluble dans l'eau. Les solutions peuvent en renfermer jusqu'à 50 % ; leur réaction est parfaitement neutre ; elles sont transparentes, brun clair, mais leur coloration s'intensifie sous l'action de la lumière ou de la chaleur. L'albumine et le chlorure de sodium ne précipitent pas les solutions de Protargol, propriété qui justifie leur emploi en thérapeutique.

Dans une publication faite en 1898 sur le Protargol, Schamelhout (1), rappelle les caractères principaux du produit. Il indique que l'on peut y caractériser d'une part, la substance albuminoïde, par les réactifs courants des protéines, d'autre part, l'argent, dans la solution nitrique des cendres.

A côté du Protargol Bayer, différentes préparations d'argent protéinique ont fait l'objet d'études particulières.

Couleur. — La couleur de ces produits est très variable. Krøber (2) mentionne à ce sujet que la

1. Schamelhout, *Annales de Pharmacie*, juin 1898

2. Krøber, *Apotg. Zeitg.*, t. 28, p. 6, 1913 ; *Schweiz. Apoth. Zeitg.*, t. 58, p. 597, 1920.

teinte des différents échantillons varie du jaune clair au brun foncé et au gris, suivant le degré de finesse.

Odeur. — Tandis que le Protargol ne présente qu'une faible odeur assez particulière, les autres préparations du commerce ont, d'après Krøber, une odeur ammoniacale qui serait en relation avec la présence de gélatine dans le produit, ou avec une décomposition de la substance.

Solubilité. — La solubilité dans l'eau, importante au point de vue pharmaceutique, varie beaucoup avec les différentes fabrications. Le Protargol est soluble à 50 %, mais il se dissout beaucoup plus lentement que la plupart de ses succédanés. Avec d'autres préparations on atteint seulement une concentration de 5 %. Quelques-unes donnent des solutions troubles, même aux plus faibles titres (Krocker).

Pour que la dissolution dans l'eau soit aisée, Eichengrün conseille de mélanger la poudre avec un peu d'eau, pour former une pâte, puis de délayer dans le reste de l'eau froide ou tiède.

Goldmann (1) donne le moyen de préparer facilement des solutions de Protargol. Il fait remarquer d'abord qu'il ne faut jamais employer de l'eau chaude qui provoque une altération du produit, révélée par la teinte plus sombre de la solution. Pour obtenir rapidement la dissolution, on projette dou-

1. Goldmann, *Ber. deutsch. Pharm. Gesell.*, t. 11, p. 111 1901.

cement la poudre sur la quantité d'eau nécessaire, contenue dans une capsule. Sans qu'il soit utile d'agiter, la poudre se répartit à la surface et se dissout facilement. Goldmann conseille aussi, pour l'emploi en thérapeutique, de dissoudre le Protargol dans une petite quantité d'un mélange à parties égales d'eau et de glycérine, puis de diluer avec de l'eau.

Dans une publication suivante, Goldmann (1) indique un autre procédé pour préparer rapidement des solutions de Protargol avec de la glycérine. Il mélange dans une capsule le produit avec la glycérine, puis ajoute la quantité d'eau voulue ; la dissolution est obtenue au bout de quinze minutes.

Enfin en 1910, Goldmann (2) revient sur ses travaux précédents et conclut que l'addition de glycérine peut être nuisible au point de vue médical. Il indique le mode opératoire suivant pour la préparation facile des solutions aqueuses : on fait tomber le Protargol à la surface d'une portion de l'eau nécessaire (environ les trois quarts) contenue dans une capsule. Après dissolution, on complète le volume avec de l'eau que l'on fait couler le long des parois, pour en détacher les particules qui peuvent y être fixées. Les solutions ne doivent pas être conservées ; elles s'altèrent rapidement, d'après ce même auteur.

1. Goldmann, *Apoth. Zeitg.*, t. 19, p. 722, 1904.

2. Goldmann, *Apoth. Zeitg.*, t. 25, p. 274, 1910.

Brüning (1) montre l'importance de l'air contenu dans l'eau employée, et celle de la qualité du verre des récipients pour la conservation des solutions. Les plus stables sont obtenues avec de l'eau bouillie et refroidie. Elles doivent être conservées à l'abri de la lumière.

Pour l'emploi immédiat du Protargol en solution chaude, on peut, d'après Chrzelitzer (2) mélanger une solution obtenue à froid avec de l'eau chauffée à 45° au plus.

1. Brüning, *Pharm. Zeitg.*, t. 52, p. 126, 1907.

2. Chrzelitzer, *Apoth. Zeitg.*, t. 25, p. 731, 1910.

IV. — INDICATIONS DES PHARMACOPÉES

Le protéinate d'argent est inscrit aux pharmacopées allemande (1910 et 1926), américaine (1926), autrichienne (1906), belge (1906), finlandaise (1914), helvétique (1907), hongroise (1909), italienne (1920), japonaise (1907 et 1921), mexicaine (1904 et 1925), néerlandaise (1915 et 1926), norvégienne (1913), roumaine (1926), serbe (1908), suédoise (1925), vénézuélienne (1910).

Les caractères d'identité exigés par la pharmacopée allemande de 1926, et qui se retrouvent dans la plupart des autres pharmacopées, sont ainsi formulés : « Renferme au moins 8 % d'argent. Poudre
« fine, jaune à brune, à saveur faiblement métal-
« lique, facilement soluble dans l'eau.

« L'argent protéinique, chauffé dans un creuset
« de porcelaine, se carbonise en répandant une
« odeur de cheveux brûlés. Chauffé au rouge, il
« laisse un résidu gris blanc, dont la solution dans
« l'acide nitrique, après filtration, donne avec l'acide
« chlorhydrique dilué un précipité blanc, caséeux,
« soluble dans un excès d'ammoniaque.

« Si l'on mélange 5 cc. de la solution aqueuse
« à 1 pour 50, 50 cc. de lessive de soude et 10 cc.

« d'eau, et qu'on y ajoute 2 cc. de solution de
« sulfate de cuivre, une coloration violette apparaît
« après quelques minutes. La solution aqueuse à
« 1 pour 50 donne un précipité après addition d'une
« solution de perchlorure de fer. Si, à 2 cc. de
« solution aqueuse à 1 pour 50, on ajoute goutte à
« goutte de l'acide chlorhydrique, il se produit un
« trouble, qui se dissout de nouveau lorsqu'on
« continue à ajouter 7 cc. d'acide chlorhydrique,
« soit à la température du laboratoire, soit en chauffant au bain-marie bouillant.

« La solution aqueuse à 1 pour 50 peut bleuir
« faiblement le papier de tournesol ; elle ne doit
« pas être immédiatement troublée quand on la
« mélange avec une solution de chlorure de sodium ;
« après addition d'ammoniaque elle peut prendre
« une teinte sombre si l'on y verse III gouttes
« d'une solution de sulfure de sodium, mais il ne
« doit pas se former de précipité.

« Si l'on agite pendant une minute un gramme de
« protéinate d'argent avec 10 cc. d'alcool à 96 %,
« le filtrat ne doit pas être modifié par l'acide chlorhydrique étendu (sel d'argent).

« Un gramme de protéinate d'argent, séché à
« 80° peut perdre 0 g. 03 de son poids. »

Les pharmacopées mexicaine et belge disent en outre que la solution à 1 % précipite par l'acide picrique. Les pharmacopées finlandaise, helvétique, italienne et roumaine mentionnent la précipitation

par l'acide picrique et par le tanin, sans autre indication.

En ce qui concerne la solubilité dans différents dissolvants, les pharmacopées du Mexique, de Finlande et du Venezuela indiquent que le Protargol est soluble dans la glycérine ; celles de Suède et de Finlande mentionnent l'insolubilité dans l'alcool et l'éther ; celle de Roumanie, son insolubilité dans l'alcool, l'éther et le chloroforme ; celles d'Italie et de Suisse tiennent compte, d'autre part, de l'insolubilité dans le sulfure de carbone.

Les essais proposés par les différentes pharmacopées portent principalement sur la recherche des sels d'argent proprement dits. Cette prescription est inscrite aux pharmacopées allemande, néerlandaise, italienne, japonaise, roumaine et suédoise.

La pharmacopée néerlandaise de 1926 fait vérifier l'alcalinité de la solution à 1 % : 10 cc. doivent être neutralisés par 0 cc. 2 d'acide $\frac{N}{10}$.

La plupart des pharmacopées fixent le taux de l'Argent à 8 %, et beaucoup d'entre elles indiquent un procédé de dosage. La méthode de destruction par le permanganate en milieu sulfurique se trouve à la pharmacopée allemande, d'après laquelle le Protargol doit titrer 8 % d'argent, et à la pharmacopée suédoise qui permet une teneur en argent variable de 7,8 % à 10 %.

Les procédés de dosage inscrits aux pharmacopées helvétique, hollandaise, italienne, japonaise,

norvégienne et roumaine sont basés sur la calcination et le titrage de l'argent par le sulfocyanure en milieu nitrique.

D'après la pharmacopée autrichienne, on précipite l'argent, dans la solution nitrique des cendres préalablement neutralisée, par un excès connu de chlorure de sodium. On dose ensuite cet excès au moyen de nitrate d'argent $\frac{N}{10}$, en présence de chromate de potassium.

La pharmacopée belge dit qu'il doit rester 8 % d'argent métallique après la calcination.

La pharmacopée des Etats-Unis mentionne deux protéinates d'argent. Le protéinate fort qui est une poudre brune titrant 8 % d'argent, et le protéinate faible renfermant 19 à 25 % d'argent, qui se présente sous forme de grains ou d'écailles d'un brun foncé presque noir. Les caractères d'identité sont les mêmes que dans les autres pharmacopées ; ils portent sur la recherche de l'argent dans les cendres, l'absence de réaction par le chlorure de sodium et la précipitation par le perchlorure de fer. Le dosage de l'argent indiqué dans les deux cas est réalisé par une calcination suivie d'un titrage au sulfocyanure.

La pharmacopée des Etats-Unis indique un essai qui a pour but de déterminer à quelle dose les solutions de protéinate d'argent arrêtent la fermentation par levure du saccharose. Nous reproduisons ici le texte de cet essai qui est décrit à propos du protéinate fort : « Triturer une solution aqueuse de

« saccharose à 1 pour 10 avec 4 % de son poids de
« levure. Mettre quatre portions de 20 cc. de ce
« mélange dans des tubes à essais. Dans l'un de ces
« tubes, ajouter 0 cc. 6 d'une solution aqueuse de
« protéinate d'argent fort (à 1 pour 200), mélanger,
« remplir immédiatement un petit tube avec cette
« mixture et le renverser dans le grand en prenant
« soin qu'il n'y ait pas de bulle qui monte dans le
« petit tube.

« Dans le second tube à essai ajouter 1 cc. 5 de
« solution aqueuse de protéinate fort à la même
« concentration ; dans le troisième tube ajouter
« 0 cc. 6 d'une solution aqueuse de nitrate d'ar-
« gent à 1 pour 2.000, et dans le quatrième 1 cc.
« de la même solution de nitrate d'argent. Remplir
« de plus petits tubes à essai avec chacune des solu-
« tions et procéder comme dans le cas du premier
« tube. Mettre les quatre tubes dans un bain à 38°,
« maintenir une heure cette température.

« A la fin de ce temps, le premier et le troisième
« des petits tubes peuvent présenter un abondant
« dégagement gazeux, le second seulement une bulle
« de gaz, et le quatrième pas plus de 1 cc. de gaz.
« Si le troisième tube ne contient pas de gaz, re-
« commencer l'essai en réduisant de moitié la con-
« centration de toutes les solutions d'argent, et s'il
« n'y a encore pas de dégagement de gaz dans le
« troisième tube, répéter l'essai en réduisant au
« tiers la concentration de toutes les solutions d'ar-
« gent.

« Si le quatrième tube de la première série d'essais contient plus de 1 cc. de gaz, recommencer « en augmentant de moitié la concentration de « toutes les solutions d'argent. »

Pour le protéinate fort, le codex dit que le dégagement gazeux est abondant quand on ajoute 0 cc. 6 de solution aqueuse à 1 pour 200 à 20 cc. de mélange levure et saccharose, et qu'il se forme au plus une bulle de gaz quand 1 cc. 5 de la même solution est introduit dans 20 cc. du mélange levure saccharose. Tandis que 0 cc. 8 de solution aqueuse de protéinate faible à 1 pour 20 permet un dégagement de gaz abondant.

V. — MÉTHODES D'ANALYSE

Le protéinate d'argent qui est surtout destiné à des applications thérapeutiques, a été l'objet d'études analytiques très précises. Ces recherches ont eu pour but de faire les déterminations suivantes :

1^o Recherche de l'argent minéral ;

2^o Dosage de l'argent ;

3^o Dosage de l'azote.

Nous examinerons successivement ces différents points de vue.

1. — Recherches de l'argent minéral.

Les préparations d'argent protéinique ne doivent pas contenir d'argent minéral, c'est-à-dire non combiné à la matière albuminoïde.

Goldmann (1) prescrit, pour en faire la recherche d'agiter le produit à examiner avec de l'alcool ; le liquide filtré ne doit pas précipiter par l'acide chlorhydrique.

Cette prescription inscrite à la pharmacopée allemande depuis 1910, a été étudiée et critiquée par

1. Goldmann, *Ber. deutsch. Pharm. gesell.*, t. 11, p. 111, 1901.

Kræber (1). Toutes les préparations qu'il a examinées donnaient un louche plus ou moins accentué, et par conséquent auraient dû être rejetées. Certains échantillons forment par agitation des suspensions homogènes dans l'alcool, d'autres se résinifient et ne se mélangent pas au liquide. On devrait seulement exiger, d'après cet auteur, que le filtrat restât limpide pendant cinq minutes après l'addition de l'acide chlorhydrique.

Kræber (2) a repris l'étude de cette question en 1914. Il dit que la recherche des sels minéraux d'argent est indispensable, parce que dans certaines préparations le défaut d'argent en combinaison organique est masqué par addition de nitrate d'argent. D'autre part, en ajoutant de l'acide chlorhydrique dans le filtrat alcoolique, il se produit toujours un louche plus ou moins intense. L'alcool renferme en effet un peu d'eau qui favorise la dissolution de traces de protéinate d'argent, et ces traces réagissant avec l'acide chlorhydrique, forment un précipité qui se dissout à nouveau, pour une certaine concentration de l'acide ajouté. Il faut noter en outre que le chlorure d'argent est soluble, lui aussi, dans l'acide chlorhydrique, mais à une concentration plus élevée que celle qui est nécessaire pour dissoudre le précipité de protéinate d'argent. Kræber a fixé exactement les conditions d'un essai dans lequel la quantité d'acide chlorhydrique ajoutée

1. Kræber, *Apoth. Zeitg.*, t. 28, p. 6, 1913.

2. Kræber, *Apoth. Zeitg.*, t. 29, p. 713, 1914.

solubilise seulement l'argent protéinique d'abord précipité. « Un gramme d'argent albuminoïdique est agité trois minutes avec 10 cc. d'alcool absolu et filtré ; le filtrat, 7 cc. environ, est complété à 10 cc. avec de l'acide chlorhydrique et ne doit pas se troubler. » D'après l'auteur, on peut retrouver par ce procédé 0,1 à 0,2 % de sels d'argent étrangers.

2. — Dosage de l'argent.

Le protéinate d'argent contenant l'argent sous forme dissimulée, on ne peut y doser le métal qu'après avoir détruit la combinaison qu'il forme avec les composants albuminoïdes.

Différentes méthodes ont été proposées pour doser l'argent. Les opérations nécessaires comportent la destruction de la matière organique puis le dosage du métal. Au sujet de la destruction de la matière organique, différentes méthodes ont été expérimentées :

- 1^o Par calcination ;
- 2^o Au moyen de mélanges oxydants ;
- 3^o Autres méthodes.

Quant au dosage de l'argent il peut être effectué par plusieurs techniques :

- Par pesée d'argent métallique.
- Par pesée de chlorure d'argent.
- Par volumétrie.

1^o Destruction de la matière organique par calci-

nation. — Brüning (1) a dosé l'argent dans le Pro-targol desséché pendant huit jours dans le vide sulfurique, la dessiccation à l'étuve n'étant pas possible à cause de la grande altérabilité du produit. Il étudie les conditions de la calcination. La destruction n'est parfaite que si l'on calcine lentement. Le résidu est constitué par de l'argent et de l'oxyde d'argent à côté de traces impondérables d'alcali. Dans les cendres dissoutes par ébullition avec de l'acide nitrique, on titre l'argent soit par la méthode volumétrique de Charpentier-Volhard, soit par pesée. Ce deuxième procédé est préférable, parce que le Pro-targol renferme des traces de chlorure d'argent qui échappent à la détermination volumétrique. Ce chlore provient vraisemblablement d'un lavage insuffisant des produits albuminoïdes servant à la préparation. La différence entre les résultats obtenus par la méthode pondérale et ceux donnés par la volumétrie permet précisément de déterminer la teneur en chlore.

Warnecke (2) calcine un mélange de protéinate d'argent et de peroxyde ou d'oxyde de magnésium ; l'opération se fait sans boursofflement de la masse. Les cendres dissoutes dans de l'acide nitrique contiennent l'argent que l'on titre par la méthode de Charpentier-Volhard.

2^o *Destruction de la matière organique au moyen de mélanges oxydants.* — Les oxydants employés sont

1. Brüning, *Pharm. Zeitg.*, t. 52, p. 126; 1907.

2. Warnecke, *Apoth. Zeitg.*, t. 29, p. 943, 1914.

principalement le permanganate de potassium en milieu sulfurique ou nitrique, l'acide nitreux et l'eau oxygénée.

a) *Emploi du permanganate de potassium.* — Pio Lami (1) décompose le Protargol dissous par du permanganate de potassium en présence d'acide sulfurique. Quand la destruction est complète, il provoque la précipitation d'argent métallique par addition de zinc et d'acide chlorhydrique. Il pèse l'argent formé.

La pharmacopée allemande de 1910, qui introduisit le protéinate d'argent, mentionnait le dosage volumétrique de l'argent dans la solution nitrique des cendres. Marschner (2), inspiré par Rupp, a étudié le procédé de destruction par le permanganate en milieu sulfurique, suivi d'un titrage volumétrique, qui est devenu, après quelques modifications, le dosage officiel inscrit à la pharmacopée de 1926.

Marschner emploie un gramme de Protargol qu'il dissout dans 10 cc. d'eau. Il y ajoute 10 cc. d'acide sulfurique puis deux grammes de permanganate de potassium finement pulvérisé ; la liqueur se décolore peu à peu, l'argent se transforme en sulfate. Une teinte rose due à un excès de permanganate doit subsister. Cet excès est détruit par l'addition ménagée de cristaux d'acide oxalique. La solution diluée est titrée au sulfocyanure d'ammo-

1. Pio Lami, *Boll. Chim. Farm.*, t. 46, p. 8251, 1907.

2. Marschner, *Apoth. Zeitg.*, t. 27, p. 887, 1912.

nium après addition d'acide nitrique, pour rendre net le virage de l'alun de fer. Dans ses essais, l'auteur a employé 7 cc. de sulfocyanure décinormal, pour une prise d'essai de un gramme, ce qui correspond à 8 % d'argent. Il ajoute que l'on peut préalablement sécher le Protargol à 80° pendant une heure, mais pour les bonnes préparations qui ont une faible teneur en eau, le résultat est peu influencé ; il a employé dans ce cas 7 cc. de sulfocyanure décinormal. On peut donc éviter cette manipulation.

Krøber (1) recommande le procédé de dosage de Marschner, mais il est préférable d'après lui de détruire le permanganate en excès par une solution concentrée d'acide oxalique, pour n'en employer que la quantité nécessaire. En outre le degré d'humidité variant de 3 à 10 % pour les différentes préparations, ce qui peut amener jusqu'à 10 % de variation du titre en argent, il faudrait fixer un taux limite d'humidité, ou faire le dosage sur le produit desséché.

Dans un article publié peu de temps après celui de Krøber, Rupp (2) montre qu'un dosage sur la substance desséchée, sans tenir compte de la proportion d'eau, est une absurdité analytique. Il faut rejeter les préparations présentant une forte teneur en eau, qui sont de moindre valeur, et qui se décomposent facilement.

Après avoir examiné les conclusions de Rupp,

1. Krøber, *Apoth. Zeitg.*, t. 28, p. 6, 1913.

2. Rupp, *Apoth. Zeitg.*, t. 28, p. 117, 1913.

Krøber (1) écrit qu'il faut faire le dosage sur la substance desséchée et abaisser à 7 cc. 2 le minimum de sulfocyanure à employer pour permettre la présence de 3 % d'eau. La quantité de permanganate de potassium fixée par Marschner, 2 grammes, est trop forte pour détruire un gramme de Protargol. Comme indicateur, on doit employer 5 à 10 cc. de solution de sulfate de fer ammoniacal pour avoir un virage net.

Lehmann (2) cite la méthode de Marschner et les modifications de Krøber ; il propose l'emploi du sulfate ferreux pulvérisé pour détruire l'excès de permanganate ; le sel ferrique qui se forme sert d'indicateur.

Herzog (3) approuve aussi le procédé de Marschner-Rupp et il recherche quelle quantité de permanganate il faut employer. Un excès de ce réactif n'ayant pas d'action nuisible, on peut continuer à se servir des données originales. En 1929, Herzog (4) a proposé de remplacer le procédé de la pharmacopée allemande qu'il juge sûr mais peu pratique, par celui de Rupp, en détruisant l'excès de permanganate par du sulfate ferreux, comme l'a fait Lehmann.

En 1922, Maue (5) donne les résultats d'une nouvelle série d'essais par le procédé au permanganate. Il opère de la façon suivante : « Dans un récipient

1. Krøber, *Apoth. Zeitg.*, t. 29, p. 713, 1914.

2. Lehmann, *Arch. d. Pharm.*, t. 253, p. 42, 1915.

3. Herzog, *Arch. d. Pharm.*, t. 253, p. 441, 1915.

4. Herzog, *Ber. deutsch. Pharm. gesell.*, t. 31, p. 389, 1921.

5. Maue, *Pharm. Zeitg.*, t. 67, p. 751, 1922.

de 200 cc. on ajoute à une solution de 1 gramme de protéinate d'argent dans 5 cc. d'eau, 5 cc. d'acide nitrique d = 1,4 (= 13 cc. d'acide azotique officinal). Le vase est couvert avec un verre de montre et chauffé à l'ébullition sur une petite flamme jusqu'à solution presque claire. Après refroidissement, on ajoute peu à peu 35 cc. de solution de permanganate à un pour vingt et l'on porte le mélange à l'ébullition, sur une petite flamme, après avoir mis un agitateur et posé le verre de montre. Le mélange qui était rouge devient brun noir par agitation. Après quinze minutes d'ébullition à petit feu, on obtient une solution claire, presque incolore, dans laquelle on détruit l'excès de permanganate par une trace d'acide oxalique pulvérisé. Après refroidissement on lave le verre de montre et les parois du vase avec de l'eau, on dilue la solution avec 50 à 100 cc. d'eau, on ajoute quelques centimètres cubes de solution de sulfate de fer ammoniacal et on titre l'argent avec du sulfocyanure $\frac{N}{10}$. »

Salkin (1) a adopté la méthode au permanganate, avec une légère variation, pour déterminer la teneur en argent du Protargol fort et du Protargol faible de la pharmacopée américaine. La prise d'essai est dissoute dans de l'eau ; on additionne cette solution d'acide sulfurique puis de permanganate, jus-

1. Salkin, *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, t. 16, p. 140, 1927.

qu'à coloration rouge persistant au moins cinq minutes. On chauffe jusqu'à ébullition et l'on détruit l'excès de permanganate par de l'acide oxalique pulvérisé. On fait bouillir de nouveau ; on ajoute de l'acide nitrique, et après quinze minutes de chauffage au bain-marie, on titre l'argent au sulfocyanure en présence d'alun de fer.

En 1928, Awe (1) apporte une modification à la méthode de la pharmacopée allemande. Au lieu de peser la substance dans le vase où l'on fait le dosage, on en fait tomber une quantité exactement connue à la surface de 10 cc. d'eau contenus dans une fiole conique. La dissolution est ainsi plus aisée, et s'effectue dans les conditions recommandées pour exécuter les ordonnances.

Un procédé rapide de dosage de l'argent est enfin donné par Kogan (2). On dissout une quantité connue de protéinate d'argent dans de l'acide nitrique, et cette liqueur, après dilution, est additionnée d'une solution de permanganate de potassium jusqu'à coloration rose persistante. L'excès de permanganate est détruit au moyen d'un cristal de sulfate ferreux et l'on titre l'argent au sulfocyanure. Par cette méthode comme par celle décrite dans la pharmacopée, on ne dose que l'argent à l'état métallique. Le chlorure d'argent reste inattaqué.

b) *Emploi de l'acide nitreux.* — Stöcker (3) dé-

1. Awe, *Apoth. Zeitg.*, t. 43, p. 1025, 1928.

2. Kogan, *Pharm. Zentralhalle*, t. 69, p. 228, 1928.

3. Stöcker, *Apoth. Zeitg.*, t. 29, p. 344, 1914.

truit la matière albuminoïde du protéinate d'argent au moyen d'acide nitreux. On dissout la prise d'essai dans un peu d'eau ; on l'additionne d'acide nitrique et d'une solution de nitrite de sodium. L'acide nitreux libéré décolore la solution et l'argent passe sous forme de nitrate que l'on tire par la méthode de Charpentier-Volhard.

Danckwortt (1) a montré par le tableau suivant que l'acide nitreux n'a pas une action suffisante sur la molécule albuminoïde du Protargol. Les chiffres trouvés sont trop faibles.

Protargol	Sulfocyanure $\frac{N}{10}$	Argent	Argent %
—	—	—	—
1,0156	6 cc. 99	0,0753	7,4
1,0166	7 cc. 04	0,0760	7,5
1,0106	7 cc. 04	0,0760	7,5
0,9990	6 cc. 94	0,0749	7,5
d'après le procédé de la pharmacopée			7,9

Le dosage de Stœcker doit donc donner des résultats inexacts.

c) *Emploi d'eau oxygénée.* — Danckwortt décrit dans le même travail une nouvelle méthode pour décomposer le Protargol par voie humide, reposant sur l'emploi d'eau oxygénée en présence d'acide nitrique : « un gramme de Protargol est dissous à « froid dans 10 cc. d'eau, on y ajoute le mélange « acide nitrique Perhydrol (5 cc. de Perhydrol et « 15 cc. de NO^3H à 25 %) en agitant. On chauffe une « demi-heure à trois quarts d'heure au bain-marie, « sous la hotte, en remuant souvent jusqu'à ce qu'il

1. Danckwortt., *Arch. d. Pharm.*, t. 252, p. 497, 1914.

« reste encore 5 cc. de liquide. Ce liquide est
« dilué à 100 cc. avec de l'eau et la solution obtenue,
« de couleur jaune, est titrée directement au sulfo-
« cyanure d'ammonium après addition de 10 cc.
« de solution de sulfate de fer ammoniacal comme
« indicateur. La première coloration rouge qui se
« forme est à considérer comme virage.

Voici les chiffres cités en exemple :

Protargol	Sulfocyanure $\frac{N}{10}$	Argent	Argent %
—	—	—	—
1,0040	7 cc. 29	0,0787	7,8
1,0020	7 cc. 34	0,0792	7,9
1,0262	7 cc. 55	0,0814	7,9
d'après le procédé de la pharmacopée			7,9

L'auteur dit que l'on obtient un virage net qui disparaît après quelques temps de repos, l'eau oxygénée non détruite agissant lentement sur le sulfocyanure d'argent. Pour remédier à cet inconvénient, il recommande de décomposer l'eau oxygénée par du permanganate de potassium avant la titration, et de faire disparaître l'excès de permanganate au moyen de sulfate ferreux. Dans ces conditions il a obtenu les résultats suivants :

Protargol	Sulfocyanure $\frac{N}{10}$	Argent	Argent %
—	—	—	—
1,0060	7 cc. 34	0,0792	7,9
1,0140	7 cc. 34	0,0792	7,8

Par ce procédé le chlorure d'argent reste inattaqué.

Korndorfer (1) a obtenu de bons résultats en

1. Korndorfer, *Apoth. Zeitg.*, t. 29, p. 901, 1914.

employant de l'eau oxygénée à 3 % en présence d'acide sulfurique.

Dans ses expériences, Utz (1) a constaté que si l'on calcine fortement le Protargol, l'argent fond et se mélange avec la couverte de la porcelaine du creuset, par suite la valeur trouvée pour la teneur en argent est trop faible. Il propose de substituer à la calcination, la décomposition par le Perhydrol en milieu sulfurique : « 0,5 à 1 gramme du produit à examiner, exactement pesés est mis dans une fiole de Kjeldahl à long col, et additionnés de 10 cc. d'acide sulfurique concentré. On divise le protéinate d'argent par agitation dans l'acide sulfurique, et on y ajoute par petites portions environ 1 à 2 cc. de perhydrol Merck. Après les additions de perhydrol la réaction commence d'elle-même sans chauffage particulier. La masse entre en effervescence et s'échauffe assez fortement ; en même temps elle se décolore de plus en plus, et devient enfin complètement incolore. On laisse alors refroidir et l'on verse le liquide incolore, clair comme de l'eau, dans une fiole d'Erlenmeyer, on rince avec de l'eau distillée, jusqu'à ce que le volume dans la fiole soit à peu près de 150 cc. ; on ajoute quelques centimètres cubes de solution de sulfate de fer ammoniacal et ensuite autant de sulfocyanure d'ammonium décimal qu'il est nécessaire pour que le liquide prenne une teinte rougeâtre. »

1. Utz, *Pharm. Zeitg.*, t. 69, p. 757, 1924.

Ce procédé ne permettant pas de doser le chlorure d'argent présent, Utz ajoute qu'il réussit à le doser en même temps, par électrolyse, quand la solution renferme du cyanure de potassium. Il sépare ainsi l'argent en solution nitrique à 55° ou 60°, dans un bain dont la tension est de 1,35 à 1,38 volts, en ajoutant un peu d'alcool pour réduire l'oxyde d'argent qui peut se former.

3^o *Destruction de la matière organique par d'autres méthodes.* — Quelques procédés de dosage sont basés sur des principes différents des précédents. Celui mentionné par Schamelhout (1) repose sur la dissolution du Protargol dans de l'acide nitrique et la précipitation de l'argent à l'état de chlorure.

Pio Lami (2) qui a donné le moyen de détruire la combinaison par le permanganate de potassium en milieu sulfurique, indique aussi une précipitation par le tanin, du Protargol en solution. La masse tanique, préalablement lavée, est dissoute dans de l'acide nitrique et dans cette solution diluée on dose l'argent par pesée à l'état de chlorure.

Enfin Maue (3) a étudié et classé un certain nombre de méthodes de dosage de l'argent. A côté du procédé d'oxydation par le permanganate il distingue trois groupes :

1^o Les procédés de réduction basés sur l'emploi du tanin, du lactose ou du sulfate ferreux, réactifs

1. Schamelhout, *Annales de Pharmacie*, juin 1898.

2. Pio Lami, *Boll. Chim. Farm.*, t. 46, p. 825, 1907.

3. Maue, *Chem. Zeitg.*, t. 42, p. 513, 1918.

qui précipitent l'argent que l'on peut ensuite redissoudre dans de l'acide nitrique et titrer par volumétrie.

2° Les procédés de floculation pour lesquels le précipité obtenu par l'action de l'acide chlorhydrique est soumis à une fusion alcaline qui permet d'obtenir l'argent que l'on titre comme dans l'essai précédent.

3° Les procédés reposant sur l'échange d'ions, dont le principe est la précipitation de bromure ou d'iodure d'argent par le bromure ou l'iodure de potassium en présence d'acide sulfurique.

3. — Dosage de l'azote.

Afin de déterminer l'albumine présente dans le Protargol, Utz (1) a fait des dosages d'azote en appliquant un procédé décrit par Migault (2) et qui repose sur l'emploi d'acide sulfurique et de Perhydrol pour décomposer la substance organique. Un gramme de Protargol est traité par 10 cc. d'acide sulfurique et additionné de perhydrol Merck. On chauffe doucement et on laisse refroidir, puis on rajoute du perhydrol jusqu'à décoloration après chauffage. Dans la liqueur refroidie, on déplace l'ammoniaque formée par distillation en présence de soude et on la titre par l'acide sulfurique décinormal.

1. Utz, *Pharm. Zeitg.*, t. 69, p. 757, 1924.

2. Migault, *Chem. Zeitg.*, t. 34, p. 337, 1910.

Utz a établi que le Protargol Bayer renferme 11, 66 % d'azote ce qui correspond à 72, 88 % d'albumine. Pour sept autres préparations examinées il a donné les chiffres suivants :

I	5,5 % d'azote correspondant à 34,38 % d'albumine		
II	9,47	—	59,19 —
III	11,37	—	71,06 —
IV	10,10	—	62,50 —
V	2,69	—	16,81 —
VI	11,66	—	72,88 —
VII	9,74	—	60,88 —

D'après des résultats d'analyses faites par Kolthoff (1) le Protargol Bayer renferme 13, 8 % d'azote.

1. Kolthoff, *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, t. 14, p. 183, 1925.

VI. — INDICATIONS RELATIVES A L'ETAT COLLOIDAL

Les recherches sur le degré de dispersion du Protargol ont été entreprises par Utz (1). Il a cherché à montrer que dans le Protargol Bayer, l'argent est essentiellement plus divisé que dans les autres préparations, ce qui le rend plus actif. Pour cela il s'est servi d'ultra-filtres de collodion, préparés suivant les prescriptions d'Ostwald, en imprégnant de collodion un filtre placé dans un entonnoir. La solution de Protargol à 2 % traverse ces filtres sans subir de changement ; pour les succédanés, la solution de même concentration s'écoule incolore ou plus claire qu'avant l'expérience, les particules étant en partie retenues par le filtre.

Mannich et Curtaz (2), en reprenant l'étude du degré de dispersion de l'argent dans l'argent albuminoïde, sont arrivés à des résultats différents. Les ultra-filtres de Utz leur semblent préparés par une méthode imparfaite ; l'imprégnation du filtre avec du collodion n'étant pas régulière il en résulte la formation de places plus ou moins perméables.

1. Utz, *Pharm. Zeitg.*, t. 69, p. 757, 1924.

2. Mannich et Curtaz, *Arch. d. Pharm.*, t. 263, p. 669, 1925.

Mannich et Curtaz ont employé des membranes de collodion obtenues en évaporant sur une plaque de verre, parfaitement horizontale, jusqu'à un degré déterminé, une solution de collodion dans un mélange alcool-éther. Les membranes de collodion obtenues sont séparées de la plaque et conservées dans l'eau jusqu'à leur emploi. On les utilise en les supportant dans un entonnoir, au moyen d'une plaque de porcelaine poreuse. De ces essais d'ultra-filtration il est résulté que la teneur en argent du filtrat était régulièrement inférieure à celle de la solution primitive, et que le Protargol n'a pas une place particulière en ce qui concerne le degré de dispersion de l'argent. On décèle aussi la matière albuminoïde dans les filtrats, sans que le Protargol présente une exception.

Les mêmes auteurs ont fait des essais par dialyse avec des cartouches de parchemin. Là encore, le Protargol ne se distingue pas essentiellement des autres produits du commerce et n'en serait différent que par sa complète solubilité dans l'eau.

En opposition avec les conclusions précédentes, Mannich (1), puis Mannich et Gollasch (2) ont montré que le composant albuminoïde du Protargol est différent de ceux des autres préparations d'argent protéinique. Des réactions colorées : réaction de Millon, réaction du biuret, n'ont pas le même caractère avec le Protargol qu'avec les produits similaires. Ces

1. Mannich, *Pharm., Zeitg.*, t. 71, p. 1225, 1926.

2. Mannich et Gollasch, *Arch. d. Pharm.*, t. 265, p. 96, 1927.

auteurs ont aussi recherché le tryptophane et la tyrosine : le tryptophane, caractérisé par l'acide glyoxylique ou au moyen de perchlorure de fer et d'aldéhyde formique, ne se rencontrerait que dans le Protargol Bayer. Ils en concluent que ce produit est fabriqué au moyen d'une albumose tirée de l'albumine de la viande, tandis que les autres préparations sont obtenues à l'aide de matières albuminoïdes ne renfermant pas de tryptophane, peut-être de la gélatine.

Leurs travaux comportent aussi un examen comparatif qui repose sur l'emploi de réactifs de précipitation. Sous l'influence de l'alcool absolu les solutions de Protargol se troublent et prennent une apparence laiteuse ; avec les autres sortes de protéinate d'argent, il faut une quantité d'alcool de beaucoup plus élevée pour obtenir le même changement. Le sulfate de magnésium en solution à 50 % ne précipite pas le produit Bayer, alors qu'il précipite les autres préparations. De même les réactions obtenues au moyen de l'acide acétique à 30 % varient avec les différentes marques du commerce.

Par dialyse, le Protargol traverse régulièrement des cartouches de parchemin, tandis que les autres produits semblent composés d'un mélange de molécules dont les unes diffusent plus facilement et les autres plus difficilement. L'emploi de l'hydrate de fer dialysé permet encore une distinction : dans le Protargol la quantité de substance organique précipitable par le fer dialysé est bien plus élevée, ce qui

permet de supposer que dans les succédanés du Protargol, les composants albuminoïdes sont des corps voisins de la gélatine, non précipitables dans ces conditions.

Schlee et Thiessenhusen (1) ont utilisé la méthode de Siedentopf et Zsigmondy pour déterminer la grandeur des particules colloïdales d'après leur nombre dans un volume déterminé. La formule de Zsigmondy donnant le diamètre des particules est :

$$d = \sqrt[3]{\frac{c \cdot v}{m \cdot s}}$$

dans laquelle c représente la quantité d'argent en milligrammes, contenue dans 1 millimètre cube de la solution, m le nombre de particules contenues dans un volume v et s le poids spécifique que l'on admet être 10,47 comme celui de l'argent compact.

100 cc. de solution de Protargol à 1 % contiennent $5 \cdot 10^9$ particules dont le diamètre linéaire est de 27 $\mu\mu$.

L'influence de la conservation se fait sentir aussi bien sur les solutions que sur le produit à l'état solide. Les auteurs ont étudié des solutions fraîchement préparées au moyen de Protargol conservé dix-sept mois, et des solutions conservées pendant le même temps, comparativement avec des solutions d'une préparation récente. Le nombre des particules avait diminué dans toutes les préparations. Pour le Protargol, il était tombé aux deux cinquièmes

1. Schlee et Thiessenhusen, *Zeitsch. f. angewandte Chem*, t. 37, p. 837, 1924.

de la quantité à l'origine, tandis que le diamètre linéaire avait augmenté. Au-dessus d'une certaine grandeur, fixe pour un produit donné, les particules cessent d'être colloïdales, ce qui se traduit par une floculation.

En 1927, l'étude du degré de dispersion à l'ultramicroscope a été reprise par Dietzel et Thiessenhusen (1). Les résultats de ces expériences faites aussi d'après la méthode de Siedentopf et Zsigmondy ont été exprimés par le tableau que nous reproduisons à la fin de ce chapitre.

Dans le même article, Dietzel et Thiessenhusen citent aussi des essais qu'ils ne trouvent pas caractéristiques. C'est d'abord l'examen du pouvoir d'imprégnation des solutions de Protargol ou des autres variétés d'argent protéinique vis-à-vis d'axonge fondue ou de stéarine ; les solutions versées sur ces surfaces peuvent soit rester en gouttes isolées, soit se répandre plus ou moins. Ils n'ont pu tirer aucun résultat de ces expériences. Enfin l'action de l'acide chlorhydrique sur les solutions à différentes concentrations ne leur a pas fourni d'indication sur la qualité du produit examiné, et ne leur a pas permis de distinguer le Protargol de ses succédanés.

1. Dietzel et Thiessenhusen, *Apoth. Zeitg.*, t. 42, p. 161, 1927.

*Nombre et grandeur des particules colloïdales de Protargol
et de différentes préparations d'argent protéinique,
en solution aqueuse à 1 p. 40.000.*

Préparation	Teneur en Ag. %	Nombre de particules dans 1 cc.	Grandeur μ μ
Protargol Bayer	7,55	$9,7 \cdot 10^6$	27
Ag protéinique Heyden	8,19	$2,6 \cdot 10^6$	42
— —	8,14	$6,6 \cdot 10^6$	31
— Gehe	7,54	$7,1 \cdot 10^6$	30
— —	7,40	$4,9 \cdot 10^6$	33
— Hageda	7,95	$2,8 \cdot 10^6$	41
— Merck	7,67	$7,7 \cdot 10^6$	29
— Fahlberg	8,83	$4,4 \cdot 10^6$	36
— Voszwinkel	7,95	$3,3 \cdot 10^6$	39
Protosil Hœckert	7,97	$7,7 \cdot 10^6$	29

(D'après Dietzel et Thiessenhusen.)

VII. — MESURES DE LA CONCENTRATION EN IONS ARGENT

De nombreux travaux relatifs à la détermination des ions argent dans les préparations colloïdales ont été décrits depuis quelques années.

En 1923, Treadwell, Janett et Blumenthal (1) ont montré que le titrage électrométrique est la seule méthode exacte pour déterminer directement l'ion argent dans les suspensions d'argent colloïdal, et ils ont appliqué leur procédé au Protargol. Une solution de chlorure de sodium, ajoutée peu à peu, ne donne pas de trouble visible en présence de colloïde protecteur, mais les valeurs trouvées prouvent que la formation de chlorure d'argent n'est pas empêchée, le précipité se présentant sous forme colloïdale. Pour connaître la quantité d'argent total, la substance organique est oxydée par fusion avec du bioxyde de sodium exempt de chlore; le produit est repris par l'eau, évaporé jusqu'à destruction de l'eau oxygénée, acidulé par l'acide sulfurique et titré. On utilise une électrode de comparaison en chlorure d'argent et un millivoltmètre fonctionne

1. Treadwell, Janett, Blumenthal, *Helvetica Chimica Acta*, t. 6, p. 513, 1923.

comme indicateur. L'argent ionique est déterminé en opérant sur la solution additionnée d'acide sulfurique qui en élève la conductibilité, par un titrage au moyen de chlorure de sodium décinormal, en employant aussi une électrode de chlorure d'argent.

Des mesures de concentration des ions argent dans les solutions des préparations complexes colloïdales ont été faites par Schlee (1). La concentration se calcule d'après la différence de potentiel observée en appliquant la formule de Nernst :

$$E = \frac{RT}{nF} \log \frac{C}{c}$$

R = constante des gaz.

T = température absolue.

R = valence des ions.

F = charge (96,540 cb. pour un équivalent gramme).

C = constante variable avec la température, dépend du métal en question.

c = concentration des ions dans la solution.

Une même préparation de protéinate d'argent peut présenter différentes teneurs en ions argent suivant la manière dont elle a été préparée. Le vieillissement a aussi une influence. La concentration en ions argent dépend de la teneur en argent et varie dans le même sens qu'elle.

1. Schlee, *Biochem. Zeitsch.*, t. 148, p. 383, 1924.

Schlee et Thiessenhusen (1) ont déterminé la conductibilité spécifique des solutions qu'ils diluaient d'une façon croissante ; leurs résultats sont parallèles à ceux qui correspondent à la teneur en argent.

D'après les travaux de Paul (2), le pouvoir bactéricide des préparations à l'argent colloïdal dépend seulement de la concentration en ions argent. Kolthoff et Tomicek (3) ont continué l'étude de ce sujet et ont montré que l'action est aussi en rapport avec la finesse des particules d'argent. Des données peu précises que l'on a sur la préparation du Protargol, ces auteurs concluent que l'argent n'y est pas présent à l'état métallique, mais sous forme de combinaison avec les protéines. Des essais ont été faits sur le produit Bayer, caractérisé à l'analyse par les chiffres suivants : eau : 9,87 %. Argent : 7,87 % dont 0,79 % en ClAg. Azote : 13,8 %.

La concentration en ions argent a été mesurée au potentiomètre, avec une électrode en argent, les valeurs suivantes ont été trouvées :

Concentration de la solution de Protargol	Concentration en ions Ag.	P. Ag.
1,4 %	$2,9 \times 10^{-3}$	2,54
1,0 %	2,8 »	2,56
0,5 %	2,0 »	2,70
0,25 %	1,2 »	2,93
0,1 %	0,55 »	3,26

1. Schlee et Thiessenhusen, *Zeitsch. f. angewandte Chem.*, t. 37, p. 837, 1924.

2. Paul, *Zeitsch. Electrochem.*, t. 18, p. 521, 1912.

3. Kolthoff et Tomicek, *Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas*, t. 44, p. 103, 1925.

Le Protargol réagit avec les halogènes en formant le sel d'argent correspondant, mais à cause de la présence des colloïdes protecteurs, ces halogénures restent en solution colloïdale.

Pour montrer que tout l'argent est transformé en halogénure, Kolthoff et Tomicek (1) ont mesuré le changement de la concentration en ions argent pendant le titrage. En employant un chlorure, l'élévation de potentiel n'étant pas grande, on en déduit que la solubilité du Protargol est seulement un peu plus grande que celle du chlorure d'argent. Il y a un équilibre, dans ce cas, représenté par l'équation :



En présence d'acide, cet équilibre est déplacé vers la droite. En ajoutant un excès de chlorure, tout l'argent se transforme en chlorure d'argent.

En titrant à l'iode, on observe deux élévations de potentiel. La première correspond à la transformation de tout l'argent en halogénure, la seconde a lieu après la transformation du chlorure d'argent présent dans le Protargol en iode d'argent. On en déduit la quantité de chlorure contenu dans le Protargol.

Neergaard (2) a publié un travail relatif à la « détermination de l'argent moléculaire dissous et de son

1. Kolthoff, *Joarn. Am. Pharm. Assoc.*, t. 14, p. 183, 1925.

2. Neergaard, *Arch. f. exper. path. u. pharm.*, t. 100, p. 162, 1923 ; *Pharm. Zentralhalle*, t. 66, p. 739, 1925.

degré d'ionisation en présence d'argent colloïdal, dans quelques préparations d'argent utilisées en thérapeutique, par une méthode potentiométrique ». Il trouve que dans le Protargol, un tiers de l'argent est à l'état colloïdal, deux tiers sont dissous et 43 % de ces derniers sont contenus sous forme d'ions argent libres.

Les travaux de Dietzel et Thiessenhusen (1) en 1927, ont aussi porté sur la mesure de la concentration en ions argent par voie électrométrique. Une électrode en argent plongeant dans le liquide à examiner est reliée avec une électrode au calomel. Du potentiel observé, la concentration en ions argent se déduit en appliquant la formule de Nernst.

Pilcher et Sollmann (2) ont cherché à mesurer l'effet antiseptique et irritant des préparations à l'argent, qui correspondrait à la teneur en ions argent libres, en déterminant la concentration pour laquelle les solutions arrêtent la fermentation du saccharose par levure.

Smith et Giesy (3) font des objections à cette méthode. Ils ont mesuré électrométriquement la concentration en ions argent de plusieurs préparations colloïdales d'argent, et les variations du voltage quand on titre les solutions avec de l'acide

1. Dietzel et Thiessenhusen, *Apoth. Zeitg.*, t. 42, p. 161, 1927.

2. Pilcher et Sollmann, *Journ. Lab. Clin. Med.*, t. 8, p. 301, 1923 ; t. 9, p. 256, 1924.

3. Giesy, *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, t. 14, p. 8, 1925 ; Smith et Giesy, *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, t. 14, p. 10, 1925.

iodhydrique. Leurs expériences ont été réalisées en particulier sur le Protargol fort (Protargentum) et le Protargol faible (Solargentum) de la pharmacopée américaine. Dans le Protargentum, 81 % de l'argent se montre plus ionisable que l'iodure d'argent ; d'après Smith et Giesy, ce serait un mélange d'oxyde d'argent colloïdal avec des composés protéiniques d'argent. Dans le Solargentum 11 à 14 % de l'argent qu'il contient est sous forme plus ionisée que l'iodure d'argent.

Taylor (1) en 1927 a appliqué le test d'identité de la pharmacopée des Etats-Unis aux produits commerciaux. Il montre que l'arrêt du développement de la levure ne mesure qu'approximativement la concentration en ions argent, et ne donne aucune indication sur la valeur germinicide de ces préparations.

1. Taylor, *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, t. 16, p. 820, 1927.

DEUXIÈME PARTIE

I. — ANALYSE DES ÉCHANTILLONS COMMERCIAUX

La première partie de nos recherches sur le protéinate d'argent est une étude analytique des échantillons commerciaux les plus couramment employés en pharmacie.

Tous ces produits sont formés par la combinaison d'argent avec une ou plusieurs substances protéiques. Ils se distinguent les uns des autres par les proportions des différents éléments qui y sont contenus et aussi par quelques-unes de leurs réactions analytiques. Soumis à la calcination pour détruire la matière organique, jusqu'à obtention d'un résidu de poids constant, ces composés donnent des cendres qui renferment à côté de l'argent des éléments minéraux dont la proportion est très variable suivant les échantillons.

Pour effectuer l'analyse, nous avons procédé à trois séries d'opérations :

A) La détermination du degré d'humidité.

B) Le dosage de l'argent et des éléments minéraux qui constituent les cendres : chlore, soufre, phosphore, sodium, potassium.

C) Le dosage des principaux constituants de la partie albunoïdique : carbone, hydrogène, azote. L'oxygène a été évalué par différence. Le soufre et le phosphore se trouvent dans le groupe précédent.

A la fin de ce chapitre, nous indiquons les principales réactions analytiques des produits que nous avons étudiés.

A. Dosage de l'humidité.

La quantité d'eau présente dans les produits analysés a été déterminée par dessiccation dans le vide phosphorique.

Nous avons d'abord essayé d'opérer à l'étuve. Trois séries d'essais ont été tentés : à 35°, à 60° et à 80°, sur un produit qui dans nos expériences, est désigné par le numéro I. Dans ces conditions il y a bien en premier lieu une perte de poids, mais après un certain temps, vingt heures environ on constate une augmentation due sans doute à une altération, sous l'influence de l'air, de la lumière et de la chaleur. Le protéinate d'argent qui nous a servi à expérimenter les moyens de dessiccation a perdu en 18 heures 4,67 % de son poids dans l'étuve à 35°, 8,98 % à 60° et 10,29 % à 80°, puis a augmenté dans les trois cas, comme le montre le tableau suivant.

TABLEAU N° 1.

Durée en heures	35°	60°	80°
2	—	—	9,51
4	—	—	10,00
6	2,79	8,07	10,44
12	3,26	8,48	10,32
18	4,67	8,98	10,29
24	4,34	8,74	10,29
30	3,94	8,14	10,14

C'est afin d'éviter ces causes d'erreurs que nous avons opéré dans le vide phosphorique. On a effectué le dosage sur des prises d'essai de un gramme environ de substance, pesées exactement dans de petits cristallisoirs à couvercle rodé. Ces cristallisoirs étaient placés dans un dessiccateur à vide, au-dessus d'anhydride phosphorique, et le tout enfermé à l'obscurité. Le vide a été obtenu au moyen d'une pompe de Gaiffe-Gallet et Pilon rotative double à palettes, permettant de réaliser de très basses pressions. Avant chaque pesée, nous avons fait rentrer dans le dessiccateur de l'air desséché par passage dans de l'acide sulfurique. Nous avons prolongé les expériences jusqu'à poids constant.

Dans le protéinate d'argent I, auquel se rapportent les mesures du tableau n° 1, nous avons trouvé par ce procédé une teneur en eau de 11, 56 % après un séjour de 321 heures dans le vide phosphorique.

Nous donnons dans un tableau les résultats de la dessiccation pour les sept échantillons étudiés. Les chiffres indiqués représentent la quantité d'eau pour cent grammes de produit.

TABLEAU N° 2.

Durée en heures	1	2	3	4	5	6	7
—	—	—	—	—	—	—	—
48	9,72	3,12	4,37	—	—	—	—
160	11,11	4,56	5,65	—	—	2,98	3,58
208	11,17	4,67	5,71	—	—	—	—
256	11,53	5,08	6,06	—	—	—	—
321	11,56	5,17	6,08	—	—	3,07	3,60
372	11,45	5,09	6,01	—	—	—	—
407	—	—	—	7,18	7,41	—	—
441	11,26	5,00	5,81	—	—	—	—
502	—	—	—	—	—	3,21	3,75
512	11,46	5,19	5,97	—	—	—	—
583	11,35	5,94	5,94	—	—	—	—
671	11,61	5,36	6,19	—	—	—	—
840	11,56	5,29	6,10	7,51	7,61	—	—
1.124	—	—	—	7,59	7,71	—	—

B. Analyse des cendres.

La calcination de l'argent protéinique est longue. Il faut chauffer très doucement au début, car la masse se boursoufle ; en même temps il se dégage une odeur de cheveux brûlés. On doit, lorsque le boursoufflement a cessé, chauffer plus fort jusqu'au rouge, et assez longtemps, souvent trois ou quatre heures, pour obtenir des cendres de poids constant. Ces cendres sont blanches ou grises suivant les cas. Les produits étudiés n'ont pas tous nécessité une calcination aussi longue ; ces variations sont dues probablement au fait que les matières albuminoïdiques utilisées pour la préparation sont différentes. Le poids du résidu varie, suivant les fabrications de protéinate d'argent, entre 12, 69 % et 26, 49 %.

L'analyse qualitative a montré que les cendres peuvent être divisées en deux parties : une insoluble qui est constituée par de l'argent et des traces de chlorure d'argent, une autre soluble qui est formée de sels alcalins.

Les cendres de tous les protéinates d'argent sont alcalines. En effet ces produits renferment des alcalis, soude ou potasse, qui au cours de la calcination se carbonatent. Il se forme aussi des sulfates avec le soufre provenant de la matière albuminoïde. Enfin dans certains échantillons on trouve des traces de phosphore.

Les éléments présents dans les cendres sont donc l'argent, le chlore, le soufre, le phosphore, le sodium et le potassium. Nous allons examiner successivement les méthodes qui nous ont permis de caractériser et de doser ces corps.

1° Dosage de l'argent.

Afin de décomposer le protéinate d'argent pour y doser le métal, nous avons effectué deux séries d'essais :

a) La destruction de la matière albuminoïde par calcination qui donne l'argent métallique.

b) L'oxydation par le permanganate de potassium en milieu sulfurique qui transforme l'argent en sulfate que l'on titre par volumétrie.

a) Nous avons fait les premiers essais de calcination dans des creusets de porcelaine. Nous avons

constaté que leur couverte est très attaquée, ce qui s'explique par l'action des carbonates alcalins fondus sur les silicates de la couverte. En reprenant par l'eau le résidu, une partie des cendres est insoluble, tandis que les sels alcalins passent en solution. La portion insoluble ne devrait contenir que l'argent et des traces de chlorure d'argent, et représenter environ 8 % de la prise d'essai. Or nous avons trouvé dans plusieurs expériences 10 à 11 % d'insoluble, renfermant, à côté de l'argent, de la silice provenant du creuset. D'autre part si l'on traite ce résidu par l'acide nitrique et si après avoir filtré pour séparer la silice, on dose l'argent à l'état de chlorure, on trouve une teneur trop faible, parce qu'une partie du métal est restée englobée dans la couverte du creuset.

Pour doser par calcination l'argent dans le protéinate d'argent nous avons utilisé un creuset de quartz qui n'est pas sensiblement attaqué, et nous avons obtenu de bons résultats en opérant de la façon suivante : un gramme environ de produit est calciné, et après refroidissement les cendres sont dissoutes à l'ébullition dans de l'acide nitrique concentré privé de chlorures (Nous avons préparé ce réactif en distillant de l'acide nitrique fumant en présence de nitrate d'argent). La solution nitrique obtenue, diluée par les eaux de lavage du creuset, est légèrement opalescente, ce qui est dû à la présence de chlorure d'argent existant en très petite quantité dans le protéinate, et aussi aux traces de

silice provenant du creuset. On filtre cette solution pour séparer la silice et l'on y précipite l'argent à l'état de chlorure que l'on pèse. On peut aussi le titrer par volumétrie au moyen de sulfocyanure d'ammonium en présence d'alun de fer. Dans les deux cas nous avons obtenu des résultats concordants, mais nous avons surtout employé la méthode pondérale qui est plus précise.

b) Nous avons aussi appliqué, pour doser l'argent, la méthode de destruction par le permanganate en milieu sulfurique, qui a donné lieu à de nombreux travaux, et qui est indiquée par la pharmacopée allemande.

On opère sur un gramme, pesé dans une fiole conique. On dissout cette prise d'essai dans 10 cc. d'eau et on y ajoute lentement 10 cc. d'acide sulfurique concentré. Après refroidissement, on introduit par petites portions deux grammes de permanganate de potassium pulvérisé. La masse s'échauffe et mousse fortement. On laisse reposer au moins un quart d'heure, puis on dilue à 50 cc. avec de l'eau ; on détruit l'excès de permanganate au moyen de quelques cristaux de sulfate ferreux. On ajoute alors 10 cc. d'acide nitrique et on titre par le sulfocyanure d'ammonium décínormal jusqu'à virage rouge net.

Un centimètre cube de sulfocyanure décínormal correspond à 0 g. 010788 d'argent.

Les résultats trouvés par ce procédé sont tous

concordants avec ceux que l'on obtient en utilisant le dosage par calcination.

2^o *Chlorure d'argent.*

On trouve de petites quantités de chlorure d'argent dans tous ces produits, sans doute parce que les matières albuminoïdiques employées à la préparation ne sont pas complètement privées de chlorures.

Si après calcination dans un creuset de quartz, on dissout les cendres dans de l'acide nitrique exempt de chlore, il reste en suspension des traces de silice, et du chlorure d'argent facile à caractériser : on filtre, on lave le filtre à l'eau puis avec de l'ammoniaque au tiers. La liqueur ammoniacale contient le chlorure que l'on précipite à nouveau en acidulant par de l'acide nitrique.

Nous avons mis aussi le chlorure d'argent en évidence par le procédé suivant : nous calcinons dans un creuset de platine ; les cendres sont dissoutes dans de l'acide nitrique dilué, et nous obtenons ainsi une solution légèrement opalescente, due à la présence de chlorure d'argent que l'on peut identifier comme précédemment.

Dans un des protéinates d'argent analysés nous avons pu peser ce chlorure. Dans tous les autres cas les quantités n'étaient pas dosables.

3° Soufre total.

Le soufre a été dosé par pesée à l'état de sulfate de baryum, après une fusion oxydante au moyen de nitrate de potassium et de carbonate de sodium. Nous avons préparé du carbonate de sodium exempt de soufre. Pour cela, nous avons pris une solution saturée de carbonate Solvay, dans laquelle nous avons précipité du bicarbonate en la saturant de gaz carbonique. Ce précipité, essoré et lavé avec un peu d'eau, a été séché à l'étuve où il s'est transformé en carbonate. Le nitrate de potassium ne renfermait pas de soufre.

Pour doser le soufre dans le protéinate d'argent, nous employons environ 1 g. 50 de matière. Le produit est soigneusement mélangé avec 3 grammes de nitrate de potassium et 12 grammes de carbonate de sodium. Le tout est placé dans un creuset d'argent et chauffé au moufle jusqu'à commencement de fusion de la masse. Après refroidissement, nous dissolvons dans de l'eau, et la solution est filtrée pour séparer l'argent qui reste sous la forme d'une poudre grise. La liqueur est concentrée, décomposée lentement par de l'acide chlorhydrique jusqu'à réaction acide, en évitant les projections qui pourraient avoir lieu pendant le dégagement de gaz carbonique, et le soufre est précipité à chaud par du chlorure de baryum. Après vingt-quatre heures de repos, le précipité est filtré, lavé, calciné

et pesé. Nous en déduisons le pourcentage en soufre.

4° Alcalinité.

Pour achever l'analyse des éléments minéraux, nous avons fait des calcinations en creuset de platine. Après calcination, les cendres sont reprises par l'eau, et dans la solution filtrée nous titrons l'alcalinité au moyen d'acide sulfurique décimormal en présence d'héliantine. Les résultats varient beaucoup avec les différents produits, nous les avons exprimés en soude OHNa ou en potasse OIK selon les alcalis mis en évidence.

La liqueur ainsi neutralisée est évaporée au bain-marie jusqu'à un volume déterminé, et sur des portions aliquotes nous avons recherché et dosé les autres éléments présents.

5° Phosphore.

Dans quatre préparations nous avons trouvé des traces de phosphore au moyen du réactif molybdique. Nous le précipitons sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien ; le précipité est recueilli après repos de vingt-quatre heures et peut être calciné, puis pesé.

La solution filtrée est amenée à un volume connu. Elle sert au dosage du sodium ou du potassium.

Les quantités de phosphore sont toujours très

faibles. Elles varient de 0 g. 02 à 0 g. 1 pour cent.

6° Sodium.

Le sodium a été recherché et dosé sous forme d'acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium par la méthode de Blanchetière (1), en tenant compte des modifications apportées par M. Laudat (2).

Pour préparer le réactif urano-magnésien, on fait d'abord une solution d'acétate d'uranium en mettant en contact le sel pulvérisé et de l'eau distillée, à la concentration de 7 %. On agite de temps en temps, et on filtre au bout de quarante-huit heures. D'après l'auteur, l'addition d'acide acétique à cette solution, qui est indiquée par la formule de Blanchetière, détermine à la longue un précipité et peut être supprimée sans inconvénient.

La liqueur magnésienne est obtenue en dissolvant 3 g. 33 d'acétate de magnésium sec dans la quantité d'eau suffisante pour obtenir 100 cc. de solution.

Le réactif est constitué par le mélange de 50 cc. de cette dernière liqueur avec 100 cc. de solution d'acétate d'uranium. On filtre après vingt-quatre heures. D'après Blanchetière, on emploie ces solutions en volumes égaux.

1. Blanchetière, *Bull. Soc. Chim.*, t. 33, p. 807, 1923.

2. Laudat, *Bull. Soc. Chim. Bio.*, t. 10, n° 6, juin 1928.

Le dosage du sodium se fait sur la liqueur privée de phosphore, parce qu'il se formerait un précipité de phosphate d'urane. On évapore une partie de cette solution pour chasser l'ammoniaque, on reprend par quelques centimètres cubes d'eau et l'on précipite dans la capsule par dix fois ce volume de réactif urano-magnésien. On amorce la cristallisation avec une baguette de verre, on laisse reposer au moins un quart d'heure, on lave par décantation trois fois avec le réactif et trois fois avec de l'alcool à 95° ; on fait passer, au moyen de l'alcool, le précipité sur filtres équilibrés. On sèche une demi-heure à 110°, et on pèse après refroidissement. Le poids du précipité est 60,43 fois celui du sodium qu'il contient.

7° Potassium.

L'un des échantillons de protéinate d'argent que nous avons analysés renfermait du potassium, que nous avons dosé à l'état de cobaltinitrite, en suivant la méthode de MM. Leulier, Velluz et Griffon (1). Le réactif se prépare, d'après ces auteurs, selon la technique de Biilmann (2) : on ajoute à une solution de nitrite de sodium du nitrate de cobalt cristallisé. On fait passer un courant d'air dans la solution pour éliminer l'acide nitrique ; on filtre après deux heures de repos. Dans la liqueur on précipite le

1. Leulier, Velluz et Griffon, *Bull. Soc. Chim. Bio.*, t. X, n° 7, 1928.

2. Biilmann, *Zeitschr. fur anal. chem.*, t. 39, p. 284, 1900.

cobaltinitrite par l'alcool à 96°. On recueille sur un buchner en lavant à l'alcool puis à l'éther. On sèche à l'air.

On utilise le cobaltinitrite de sodium à l'état de solution contenant un gramme de sel pour 5 cc. d'eau acétique à 1 p. 100.

Pour doser le potassium, il faut avoir éliminé les phosphates qui décomposent le cobaltinitrite de potassium en donnant du phosphate de cobalt, tandis que le potassium passe dans la solution. On évapore la liqueur et on calcine pour détruire les sels ammoniacaux qui précipitent aussi par le réactif. Les cendres sont reprises par l'eau ; on précipite dans un tube à centrifuger, de sorte que la concentration en cobaltinitrite soit de 1 p. 20. On centrifuge et on fait subir au précipité une série de lavages, d'abord avec un mélange d'alcool, éther et acide acétique, ensuite à l'alcool éther et enfin à l'éther pur. On traite le précipité par une solution de phosphate de sodium, on chauffe au bain-marie jusqu'à hydrolyse complète, pendant laquelle il se forme un louche de phosphate de cobalt, et, dans la liqueur, on dose les nitrites. Pour cela, on oxyde par du permanganate en milieu sulfurique ; après oxydation complète, on ajoute une solution d'iodure de potassium, l'iode libéré est titré à l'hyposulfite. La solution de permanganate est titrée dans les mêmes conditions. Du dosage des nitrites on déduit la quantité de potassium qui s'est combinée sous forme de cobaltinitrite.

C. — Dosage des principaux constituants
de la partie albuminoïdique.

Nous avons dosé le carbone et l'hydrogène, puis l'azote. Connaissant d'autre part les poids de l'eau et des cendres, nous obtenons celui de l'oxygène par différence.

Le tableau N° 5 indique pour tous les produits les proportions de chacun des composants se rapportant à 100 grammes de substance, calculées d'après l'ensemble de nos déterminations, qui sont exposées dans le tableau N° 4. Nous avons évalué le poids de la partie albuminoïdique qui est la somme : carbone, hydrogène diminué de l'hydrogène de l'eau, azote, soufre, phosphore et oxygène, et nous en donnons la composition centésimale (tableau n° 6).

1^o Dosage de l'hydrogène et du carbone.

Le dosage de l'hydrogène et du carbone a été fait par combustion, en suivant la méthode classique. Pour cela, nous opérons dans un tube ouvert, dans lequel nous faisons passer un courant d'oxygène préalablement séché et privé de gaz carbonique.

Pour empêcher les gaz provenant de la combustion de retourner, sous l'effet de la pression, vers les tubes servant à purifier l'oxygène, nous avons placé entre ceux-ci et le tube à combustion une fermeture de mercure. Cette fermeture est constituée par un tube à essai muni d'un bouchon à deux trous.

Par l'un de ces trous arrive l'oxygène qui va déboucher au moyen d'une pointe effilée dans du mercure. Le gaz ressort par l'autre ouverture d'où il est conduit vers la combustion. Les tubes à absorption ont été pesés pleins d'oxygène avant l'opération et dans les mêmes conditions à la fin de l'expérience.

Pour l'analyse du protéinate d'argent qui est une substance azotée, nous avons placé avant la sortie des gaz un tortillon de cuivre réduit qui, au rouge, décompose les combinaisons de l'azote avec l'oxygène absorbables par la potasse.

Nous avons utilisé des prises d'essai voisines de 0 g. 40, ce qui donne suivant les produits des pesées de 0 g. 20 à 0 g. 25 pour l'eau, et de 0 g. 50 à 0 g. 60 pour le gaz carbonique.

Le chiffre trouvé pour l'hydrogène correspond à celui de l'hydrogène de la matière albuminoïde augmenté de celui de l'eau d'humidité.

TABLEAU N° 3.

Protéinate	1	11,56	% d'eau correspondant à	1,299	% de H
—	2	5,17	—	0,599	—
—	3	6,08	—	0,69	—
—	4	7,59	—	0,849	—
—	5	7,71	—	0,862	—
—	6	3,21	—	0,35	—
—	7	3,75	—	0,416	—

Dans le tableau N° 5 qui donne la composition centésimale des échantillons étudiés, nous avons retranché ces valeurs pour n'avoir que l'hydrogène entrant dans la composition de la matière protéique.

2^o Dosage de l'azote.

La quantité d'azote contenu dans les protéinates d'argent peut servir à différencier les produits commerciaux.

Sur l'un des échantillons nous avons essayé le dosage de l'azote par le procédé de Kjeldahl et ce même procédé modifié par Fleury et Levaltier (1).

Pour mettre en œuvre la méthode de Kjeldahl, nous avons employé une prise d'essai de 0 g. 60 à 0 g. 70 que l'on chauffe avec 20 cc. d'acide sulfurique et un gramme de mercure métallique, en continuant l'opération au moins une demi-heure après la décoloration complète. Dans le mélange refroidi, on précipite le mercure par de l'hypophosphite de sodium, on dilue ensuite avec de l'eau, puis on alcalinise par la soude et on distille, en recueillant le distillat dans une quantité connue d'acide sulfurique décimormal dont on évalue l'excès.

En faisant durer la destruction trois heures et demie, nous avons obtenu 8,72 % d'azote, alors qu'en chauffant pendant deux heures seulement nous avons trouvé 8,02 %. Les chiffres donnés par les autres méthodes sont plus élevés.

Les modifications apportées à ce dosage permettent d'obtenir, d'après Fleury et Levaltier, une transformation complète de tout l'azote en ammoniaque, dans le minimum de temps. Les auteurs indiquent

1. Fleury et Levaltier, *Journ. Pharm. Chim.*, t. 29, p. 137, 1924 ; t. 30, p. 265, 1924.

qu'il faut opérer sur une prise d'essai telle que la quantité d'ammoniaque formée corresponde environ à 20 cc. d'acide sulfurique décinormal. On emploie un ballon de Kjeldahl de 300 cc., de préférence en pyrex, on y introduit la prise d'essai puis le mélange :

Sulfate de potassium	5 g.
Acide sulfurique pur ($d = 1,83$)	5 cc.
Acide phosphorique ($d = 1,75$)	15 cc.

On doit chauffer vivement aussitôt après le départ de l'eau, et prolonger ce chauffage dix minutes après la décoloration. Fleury et Levaltier ont essayé aussi l'emploi de catalyseurs, de réducteurs, ou la combinaison des deux, mais c'est avec le mélange élévateur de température cité plus haut qu'ils ont pu doser intégralement l'azote dans les corps albuminoïdes incomplètement attaqués par la méthode de Kjeldhal.

Nous n'avons pas continué à employer ce procédé parce que les ballons sont rapidement attaqués par le mélange destructeur et se brisent souvent en cours d'opération, quand ils ont déjà servi pour un ou deux dosages.

Dans le même échantillon de protéinate d'argent, nous avons dosé l'azote par la méthode de Dumas ; les résultats sont sensiblement les mêmes que ceux que l'on obtient par le procédé de Fleury et Levaltier, et oscillent autour de 9 %.

Pour tous les autres produits étudiés, nous avons employé la méthode de Dumas. Les chiffres trouvés varient de 9 % à 15,05 % avec les différentes fabrications.

TABLEAU

Ensemble des résultats d'analyse des

	Carbone	Hydrogène	Azote			Cendres	Eau
			Dumas	Fleury et Levaltier	Kjeldahl		
1	36,36	5,75	8,74	8,83	8,72	26,33	11,56
	35,66	5,71	9,03	9,05	8,02	26,49	
	34,97	5,89	8,93		7,92	26,57	
	35,66	5,78			8,79	26,33	
		5,76				26,53	
2	37,60	5,83	15,05			14,81	5,17
	37,22	5,86	14,89			14,44	
	37,64	5,92	15,14			14,38	
		6,02				14,45	
						14,67	
3	36,08	5,37	10,64			26,05	6,08
	36,78	5,69	11,15			25,23	
	36,15	5,82	10,64				
		5,68					
		5,85					
4	34,93	5,46	10,94			26,40	7,59
	35,84	5,37	11,04			25,83	
	34,48	5,57				25,45	
	35,46	5,50				26,07	
		5,74				26,57	
5	34,05	5,68	11,10			26,23	7,71
	33,85	5,70	10,79			25,73	
	35,72	5,67	11,70				
		5,59					
		5,61					
		5,79					
6	43,95	6,21	13,88			12,69	3,21
	44,12	6,38	13,82			12,81	
	44,01	6,30	13,75				
7	39,92	5,72	14,87			16,41	3,75
	39,90	5,89	14,91			16,48	
	39,38	5,90	14,78			16,38	

N° 4.

échantillons de protéinate d'argent.

Oxygène par différence	Argent		Chlorure d'Ag.	Soufre	Phosphore	Potassium	Sodium
	Calcination	Procédé à MnO ⁴ k					
12,93	7,97 7,88 8,02	8,16 8,08 8,16	traces	2,53 2,49 2,62	traces	10,50 10,70	0
22,27	7,83 7,81	8,08 8,16 8,15	traces	0,45 0,40 0,42	0	0	2,63 2,50 2,46 2,51
16,13	7,83 7,82	7,98 7,69 7,90 8,08	traces	2,06 2,16	0,026	0	5,87 5,96 6,27
15,36	8,00 7,91 8,05	7,96 8,09 8,03 8,07	traces	2,22 2,29 2,19	0,02	0	4,43 4,05 3,98
14,61	8,00 7,96	7,87 7,81 8,17 7,95 8,07	traces	2,06 2,28 1,80	0,10	0	3,98 4,16
20,33	8,14 8,07	7,96 7,96 8,05 8,15	traces	0,93 0,88	0	0	0,55 0,49 0,54
20,12	8,02 8,16 7,97	8,10 8,15 8,18	0,208 0,18	0,55 0,48	0	0	2,87 2,78 2,88

TABLEAU N° 5.

Composition centésimale des échantillons de protéinate d'argent.

	Carbone	Hydrogène	Azote	Oxygène (1)	Cendres	Eau	Argent	Chlorure d'Ag	Soufre	Phosphore	Potassium	Sodium	Alcalinité des cendres en O H M.
1	35,50	4,51	9,00	12,93	26,49	11,56	8,08	traces	2,53	traces	10,70	0	6,48
2	37,60	5,24	15,05	22,27	14,67	5,17	8,15	traces	0,40	0	0	2,50	3,61
3	36,15	5,00	10,64	16,13	26,00	6,08	8,00	traces	2,06	0,026	0	5,96	5,74
4	35,46	4,65	10,94	15,36	26,00	7,59	8,03	traces	2,22	0,02	0	4,05	6,88
5	35,70	4,88	11,10	14,61	26,00	7,71	8,07	traces	2,06	0,10	0	4,00	6,80
6	44,01	5,95	13,82	20,33	12,69	3,21	8,10	traces	0,90	0	0	0,49	0,42
7	39,38	5,47	14,87	20,12	16,41	3,75	8,15	0,19	0,50	0	0	2,80	4,18

(1) Les valeurs indiquées pour l'oxygène, calculées par différence comme il a été dit plus haut, comportent une légère erreur par défaut, due à ce que le gaz carbonique de l'air agit sur les cendres pendant la calcination.

TABLEAU N° 6.

Composition centésimale de la partie albuminoïdique.

	Carbone	Hydrogène	Azote	Oxygène	Soufre
1	55,05	6,99	13,95	20,05	3,92
2	46,67	6,50	18,66	27,64	0,49
3	51,65	7,14	15,20	23,05	2,94
4	51,64	6,77	15,94	22,38	3,23
5	52,24	7,14	16,24	21,37	3,01
6	51,77	7,00	16,25	23,91	1,05
7	49,01	6,81	18,50	25,04	0,62

RÉACTIONS ANALYTIQUES.

Pour achever cette étude analytique et caractériser les produits, nous avons effectué différentes réactions.

La teinte des échantillons étudiés varie du jaune clair au brun ; après une exposition prolongée à la lumière solaire, quinze jours environ, la couleur devient nettement plus foncée en surface de la poudre.

Toutes les solutions à 1 % sont alcalines au tournesol ; en diluant ces solutions de moitié, et en y ajoutant une goutte de solution alcoolique de phénolphtaléine, nous avons obtenu, seulement pour les échantillons 2 et 4, une faible teinte rose.

Le protéinate d'argent se dissout dans le sérum physiologique, en donnant d'abord des solutions limpides, mais qui ne sont pas stables : elles commencent à se troubler après quelques heures, puis laissent déposer un précipité clair, tandis que la liqueur se décolore peu à peu.

L'addition de 1 cc. d'acide chlorhydrique concentré à 5 cc. de solution à 1 % précipite l'argent protéinique sous forme d'un trouble brun abondant qui se dissout quand on continue à ajouter de l'acide, mais pour des quantités très variables de réactif que nous indiquons ci-dessous :

TABLEAU N° 7

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>
Quantité d'acide chlorhydrique ajouté pour obtenir la dissolution.	15 cm ³	5 cm ³	10 cm ³	15 cm ³	15 cm ³	5 cm ³	5 cm ³
	reste traces de précipité				reste traces de précipité		

Un courant d'hydrogène sulfuré dans la solution à 1 % ne précipite pas de sulfure d'argent, la teinte devient seulement plus foncée. Avec le protéinate n° 1 on a en même temps la formation d'un léger trouble.

La chaleur n'a pas d'action apparente : 5 cc. portés à l'ébullition dans un tube à essai ne sont pas modifiés au point de vue de leur aspect extérieur.

Nous avons recherché les sels minéraux d'argent, en employant la méthode de Krøber décrite dans la première partie de notre travail. Nous n'avons obtenu aucune réaction positive.

Presque tous les produits étudiés renferment des traces d'acide nitrique. Au moyen de cuivre et d'acide sulfurique on a obtenu un léger dégagement de vapeurs nitreuses dans la solution du protéinate d'argent n° 2. Avec la diphénylamine en liqueur sulfurique, qui est un réactif très sensible, on a

caractérisé de faibles quantités d'acide nitrique dans tous les protéinates, à l'exception du n° 1.

Un certain nombre de réactions ont été tentées pour différencier les matières albuminoïdiques en présence. Nous avons fait successivement :

1° La réaction xanthoprotéique sur 1 cc. de solution auquel on ajoute 1 cc. d'acide nitrique, puis 2 cc. d'ammoniaque ;

2° La réaction de Millon avec 1 cc. de solution à 1 % et 5 cc. de réactif ;

3° La recherche du tryptophane par la réaction d'Adamkeivicz :

A 1 cc. de solution on ajoute 15 cc. d'acide chlorhydrique, 1 goutte de formol, et 1 goutte de nitrite de sodium à 1 %.

4° La réaction du biuret (1 cc. de solution, 4 cc. de lessive de soude, $\text{SO}^4 \text{Cu}$ à 1 % Q. S.).

5° L'action de 5 cc. d'alcool à 96 sur 2 cc. de solution.

Les résultats de ces expériences sont exprimés ci-dessous : (Voir tableau p. 84).

Enfin nous n'avons pas trouvé de caractéristique à l'un ou l'autre des échantillons en faisant agir le réactif de Tanret, le tanin acétique, le ferrocyanure acétique qui précipitent toutes nos solutions.

TABLEAU N° 8

	1	2	3	4	5	6	7
Réaction Xantho- protéique	1° trouble jaune	liquueur limpide incolore	trouble jaune	trouble jaune	trouble jaune	liquueur limpide jaune	liquueur limpide jaune
	2° liquueur limpide	—	liquueur limpide	liquueur limpide	liquueur limpide	—	—
Réaction de Millon	flocons blancs liquide opalescent	pas de trouble solution incolore	flocons blancs liquide opalescent	flocons blancs liquide opalescent	flocons blancs liquide opalescent	flocons blancs liquide opalescent	pas de trouble solution incolore
Recherche du tryptophane	+	—	+	+	+	+	—
Réaction du Biuret	+	faiblement +	+	+	+	+	faiblement +
Précipitation par l'alcool à 96°	—	+	—	—	—	+	—

II. — NUMÉRATION DES PARTICULES COLLOÏDALES ET ESSAIS DE CONSERVATION.

Les échantillons d'argent protéinique que nous avons étudiés sont tous, excepté celui que nous avons désigné par le n° 2, complètement solubles dans l'eau. Dans le cas de ce produit n° 2, il reste une portion brune insoluble, et le dépôt augmente rapidement après quelques jours, tandis que la solution, qui, fraîche, était brun sombre, prend une teinte beaucoup plus claire.

Pour préparer les solutions, nous avons suivi le procédé, décrit par de nombreux auteurs, qui consiste à déposer la poudre à la surface de l'eau nécessaire, contenue dans un bécber.

Ces solutions nous ont servi à faire deux séries d'expériences :

1° L'examen du mouvement brownien et la numération des particules colloïdales dans les solutions fraîches, et comparativement dans des solutions préparées depuis un temps connu.

2° Sur des solutions conservées dans différentes conditions d'éclairage, l'observation des changements de teinte et celle de la courbe de chute du colloïde.

1^o Numération des particules.

Les particules colloïdales du protéinate d'argent ont été observées et comptées à l'ultramicroscope.

Nous utilisons une lame portant une cellule, dans laquelle nous enfermons, à l'aide de la lamelle, le liquide sous une certaine épaisseur. Ce dispositif permet d'étudier un volume de liquide suffisant pour bien voir les particules et en faire la numération.

Avant de monter une préparation, les lames, nettoyées soigneusement, sont laissées deux ou trois heures en contact avec une masse métallique, afin de les priver de la charge électrique qui s'est développée pendant l'essuyage. Sinon, une grande partie des granules colloïdaux qui viennent en contact avec les faces de verre électrisées, perdent leur charge et se collent au verre.

Une goutte de la solution à examiner est prélevée avec une baguette de verre et déposée dans la cellule. La lamelle est fixée au-dessus au moyen de gouttes de paraffine fondue déposées à chacun de ses angles. Lorsqu'on observe ensuite la préparation, avec de l'huile de cèdre comme milieu intermédiaire, la lamelle n'est pas soulevée par les déplacements du tube du microscope, de sorte que les granules colloïdaux se présentent avec leur mouvement propre.

L'oculaire micrométrique de notre microscope est construit de façon qu'une division corresponde

à 0 mm. 0016 pour une longueur de tube de 16 cm. Nous avons dénombré les particules comprises sous l'un des carrés de l'oculaire micrométrique, dans toute la hauteur de liquide qui se trouve entre lame et lamelle. Le système optique est déplacé au moyen d'une vis micrométrique dont chaque division vaut 0,002 millimètre. En mesurant ainsi la profondeur du champ étudié, dont on connaît la surface, nous trouvons le volume qui renferme le nombre de particules rencontrées; nous en déduisons la quantité par unité de volume.

Nous avons fait la plupart de nos déterminations sur des solutions à 1 %, fraîchement préparées, et aussi sur des solutions conservées un certain temps. Avec chacune de ces liqueurs, plusieurs préparations ont été examinées, et dans chaque cas nous avons compté les particules colloïdales sur dix à douze points différents du champ d'observation. Le chiffre que nous donnons est une moyenne de ces résultats.

La grandeur des granules est irrégulière, quels que soient les échantillons. Leur nombre diminue avec le temps comme le montrent les chiffres du tableau 9, qui correspondent à 1 cc. de solution à 1 %.

TABEAU N° 9

Solution	1	2	3	4	5	6	7
Fraîche.....	2,41.10 ¹⁰	3,82.10 ¹⁰	3,25.10 ¹⁰	3,39.10 ¹⁰	3,69.10 ¹⁰	3,17.10 ¹⁰	3,77.10 ¹⁰
9 mois.....	0,97.10 ¹⁰	2,06.10 ¹⁰	2,38.10 ¹⁰	1,38.10 ¹⁰	1,43.10 ¹⁰		

2° Essais de conservation des solutions.

Pour ces expériences, nous avons employé des solutions à 1 % ; quatre séries de prises d'essai ont été conservées de quatre manières différentes : à l'obscurité, à la lumière diffuse dans le laboratoire, à la lumière du jour en août et septembre pour une série à Paris, pour une autre en Provence.

Ces solutions fraîchement préparées ont été réparties par portions de 10 cc. dans des tubes à essais en verre mince et incolore, scellés ensuite au chalumeau. On les a laissées en expérience pendant cinquante jours. Cette durée n'amène pas un grand changement dans l'état des solutions placées à l'obscurité, mais nous allons voir que la transformation devient plus profonde quand l'intensité de la lumière augmente. L'altération se traduit par deux phases successives : d'abord la liqueur devient plus foncée, puis il y a précipitation au fond du tube et pour certains échantillons apparaît un dépôt d'argent sur les parois, ce qui produit un éclaircissement de la solution.

Nous avons comparé par néphélémétrie les couches successives des solutions expérimentées, afin de mettre en évidence la tendance à la floculation. Cet examen nous a servi à tracer la courbe de chute de chaque produit.

Pour chaque échantillon, une solution fraîche à 1 % a servi de terme de comparaison. Les tubes con-

servés aussi immobiles que possible ont été ouverts et le liquide a été aspiré à la partie supérieure au moyen d'une pipette. Dans l'un des godets du néphélémètre on a placé 2 cc. de la solution fraîche prise comme élément de comparaison, et dans l'autre successivement chaque fraction de 2 cc. provenant des tubes expérimentés. L'appareil était réglé de manière que la solution type fut examinée sous une épaisseur de 10 millimètres, et l'on déterminait la hauteur sous laquelle il fallait observer la solution en expérience, pour réaliser l'égalité de teinte. Ultérieurement, on a fait, sur l'échelle de l'appareil, une série de lectures suivant le même principe, en faisant varier progressivement l'épaisseur de solution type. Les rapports de hauteur étaient comparables à ceux précédemment obtenus.

Dans plusieurs cas, la partie inférieure des solutions était devenue trouble et n'a pu être examinée. Nous n'avons alors prélevé que trois ou quatre fractions de 2 cc. surmontant le dépôt.

Nos résultats sont exprimés au moyen de courbes que nous avons groupées de deux façons différentes.

Les quatre premiers tracés correspondent aux quatre modes de conservation, et permettent de comparer les produits entre eux. Les chiffres portés en abscisses représentent ceux de la graduation en millimètres de l'appareil. En ordonnées, les divisions indiquent les fractions de 2 cc. qui forment les couches superposées de liquide dans les tubes. Les valeurs choisies pour construire chaque courbe sont

une moyenne des lectures faites dans chaque cas.

Sur les figures, la liqueur témoin est représentée par une parallèle à l'axe des ordonnées (la solution colloïdale paraissant homogène) menée par le point d'abscisse 10, puisque l'on compare à 10 millimètres de cette liqueur. Les courbes représentatives qui sont dans tous les cas, sauf deux, situées entièrement à gauche de cette ligne, correspondent à des liquides plus foncés que le témoin.

Sauf dans le cas de l'échantillon n° 2, on n'a pas observé de grandes différences entre les fractions successives prélevées dans les tubes restés à l'obscurité, la sédimentation n'y est donc pas intense. On a trouvé seulement un très léger dépôt au fond des tubes.

On a remarqué une floculation assez abondante dans le cas du protéinate d'argent n° 2; la partie inférieure du liquide renfermait un dépôt brun assez abondant, et la courbe, très inclinée par rapport à celle du témoin, montre la différence d'opacité entre les diverses portions de la solution.

A la lumière solaire les produits ont subi des altérations plus grandes, plus difficiles à étudier au néphélémètre. En les observant tous les jours au début de la mise en expérience, on a pu voir que toutes les solutions devenaient rapidement plus foncées, puis se troublaient. Dans trois cas, avec les essais n° 2, 6 et 7, les parois ont été recouvertes d'un dépôt argenté très régulier, au bout de cinquante jours.

Après l'action de la lumière solaire en Provence, le précipité qui occupait le fond de chaque tube a empêché l'examen néphélométrique de la fraction inférieure, et même de 4 cc. pour l'un d'entre eux. Les courbes sont donc incomplètes et n'arrivent pas à l'axe des abscisses. On constate qu'elles correspondent à des solutions moins foncées par rapport au témoin que dans les cas précédents, et pourraient d'abord laisser croire que l'altération est moins avancée, mais c'est parce que le colloïde est détruit en grande partie et rassemblé dans la partie inférieure que l'on ne peut observer.

Nous avons tracé d'autre part sept graphiques, un par échantillon, pour essayer de montrer la progression dans les changements constatés sur un même produit. On peut observer l'intensification des teintes sous l'influence de la lumière en comparant les essais I (obscurité), II (lumière diffuse), III (lumière solaire, à Paris. Si la lumière est très vive (IV, observation faite en Provence au cours de l'été), on constate un éclaircissement des solutions dû à leur précipitation.

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1%

Comparaison d'échantillons variés conservés à l'obscurité.

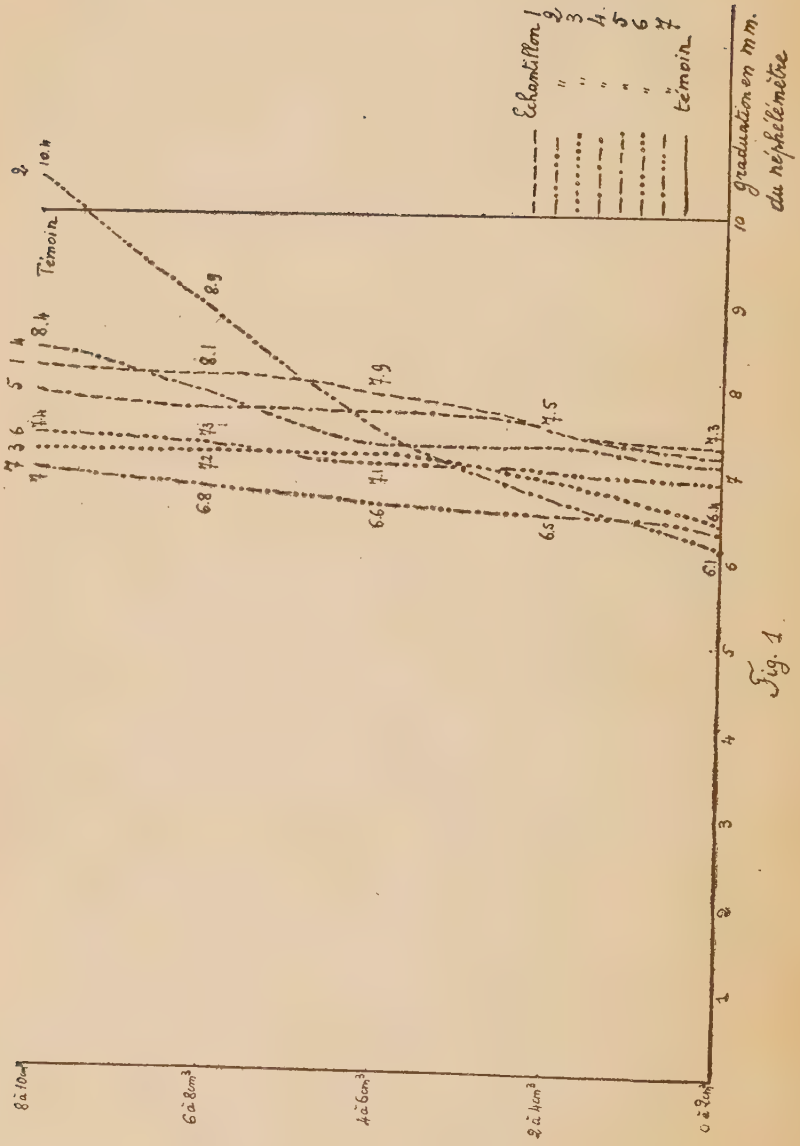


Fig. 1

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1 %

Comparaison d'échantillons variés conservés à la lumière diffuse.

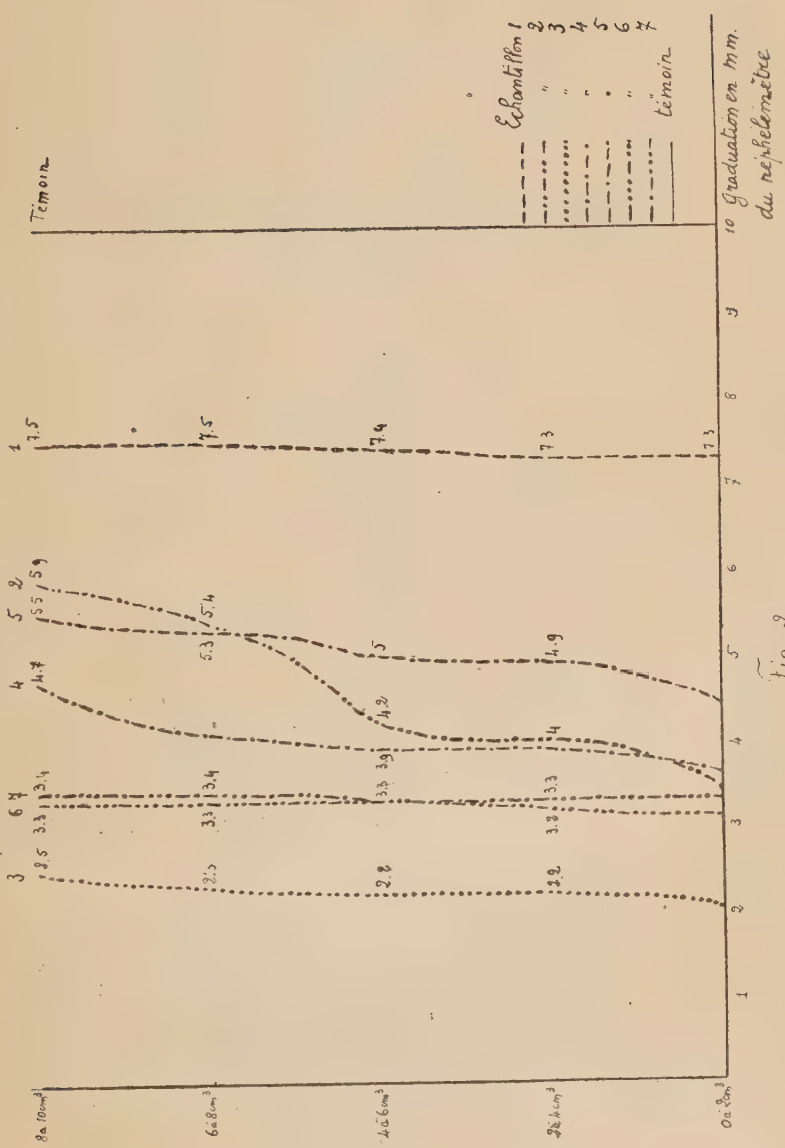
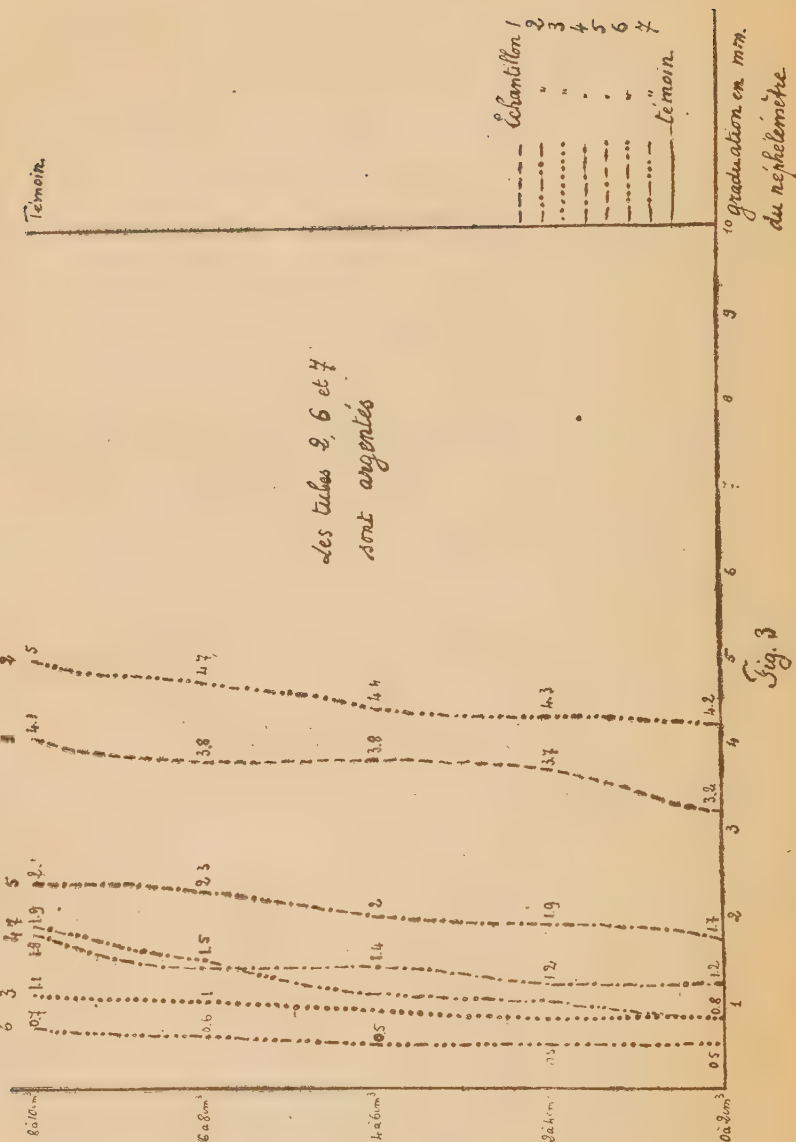


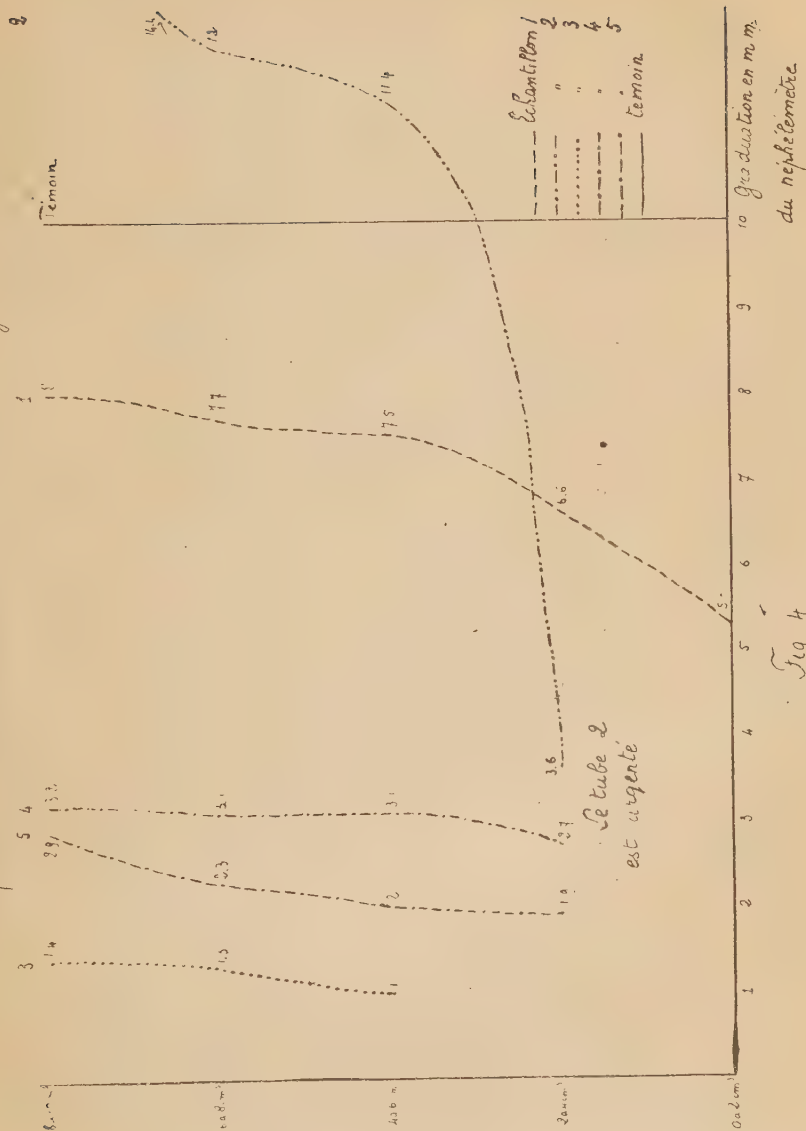
Fig 2

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1%
 Comparaison d'échantillons soûs conservés à la lumière du jour, à Paris.



Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1 %.

Comparaison d'échantillons, avis conservés à la lumière du jour en Provence.



Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1%

Echantillon n°1 conservé dans différentes conditions.

- I à l'obscurité
- II à la lumière diffuse
- III à la lumière, à Paris
- IV à la lumière, en Provence

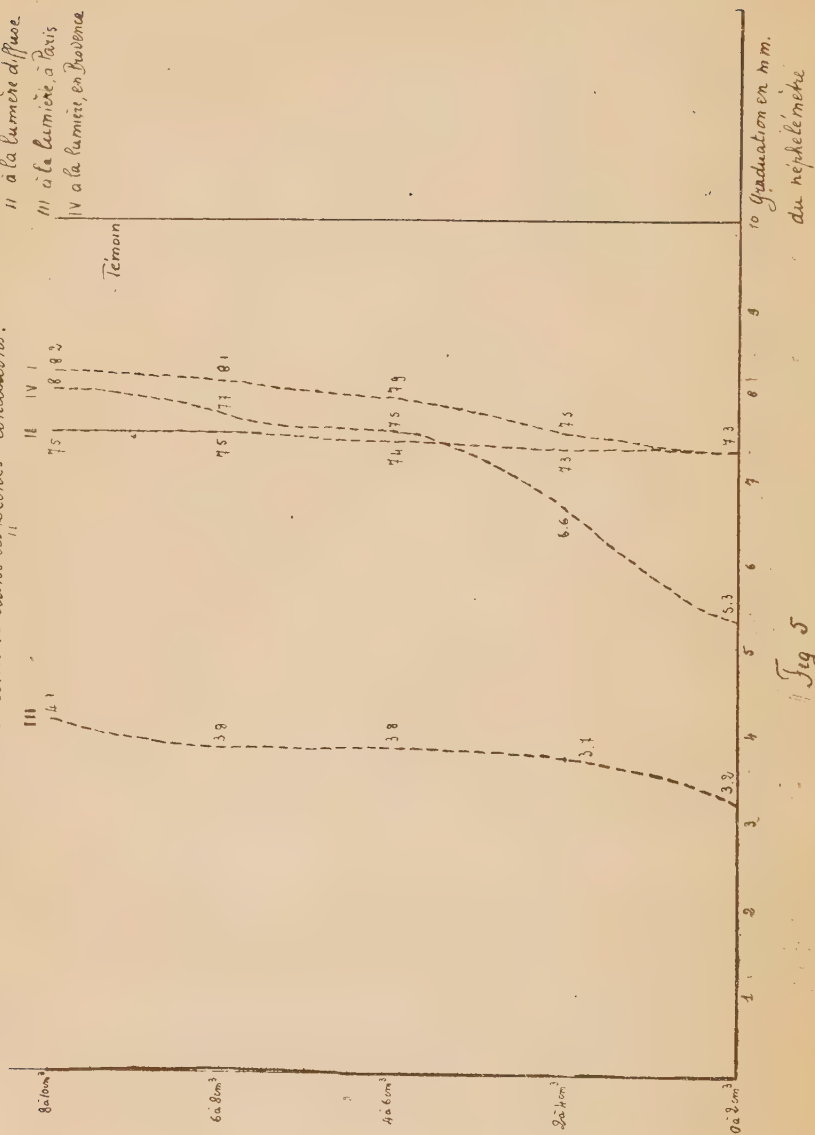


Fig 5

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1%

Echantillon n° 2 conservé dans différentes conditions.

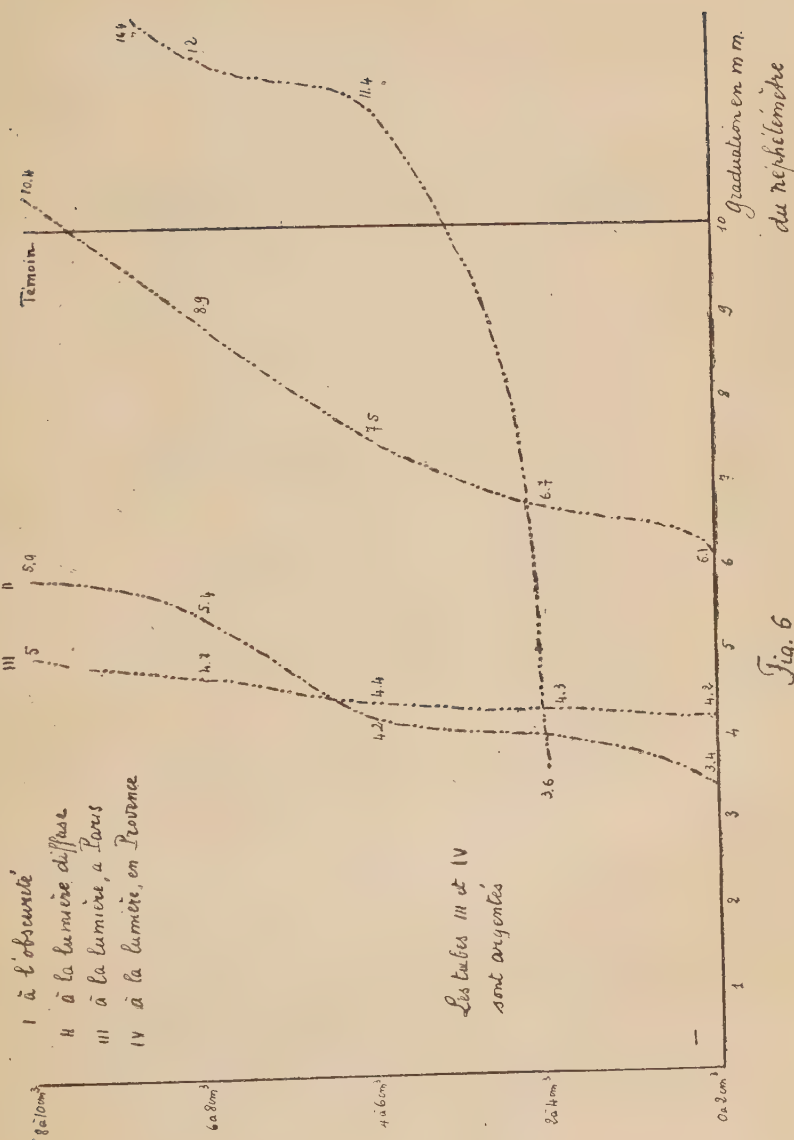


Fig. 6

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1 %

Echantillon n° 3 conservé dans différentes conditions.

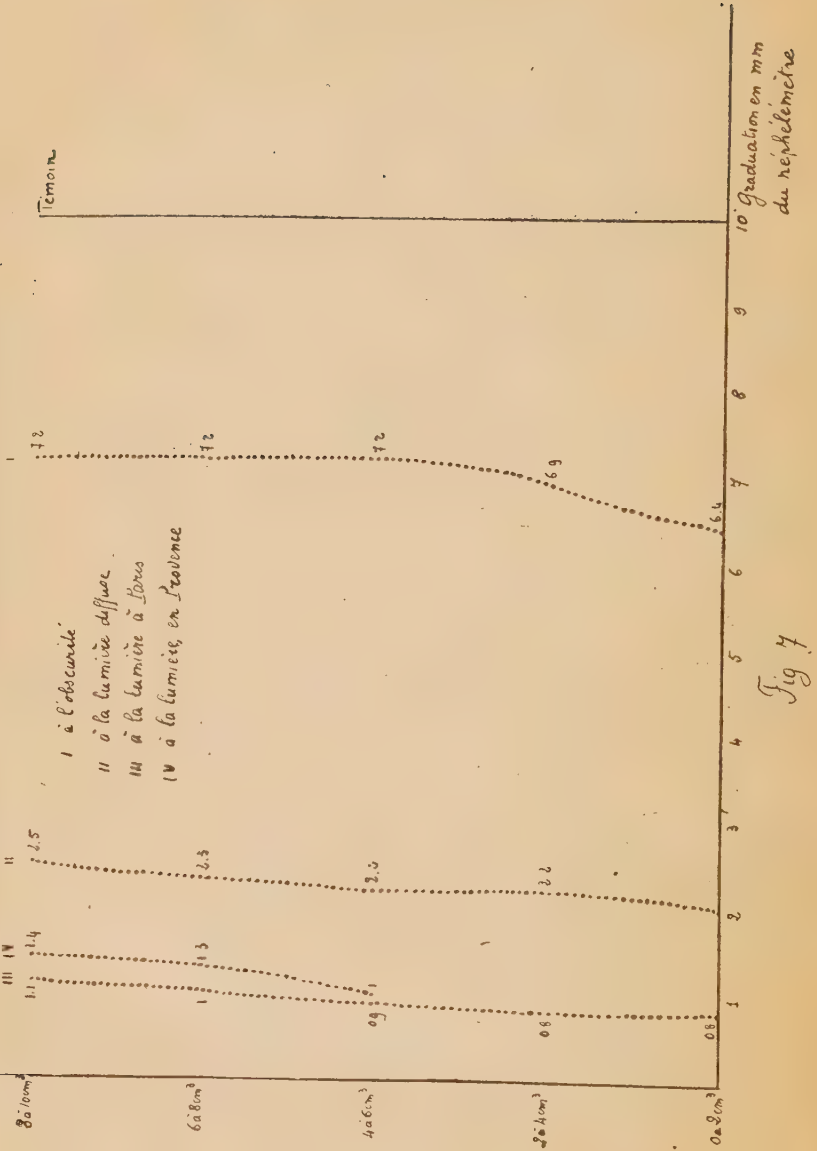


Fig. 7

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1 %.

Echantillon n° 4 conservé dans différentes conditions.

- I à l'obscurité
- II à la lumière diffuse
- III à la lumière, à Paris
- IV à la lumière, en Provence

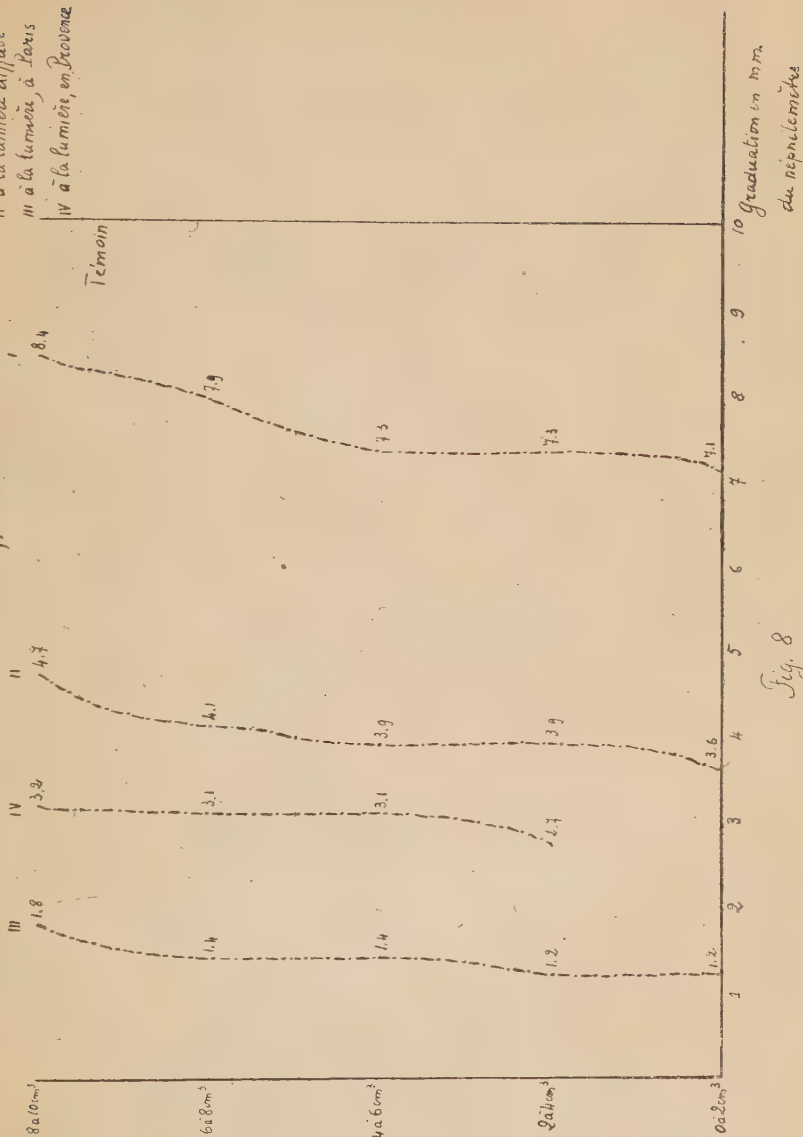


Fig. 8

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1%

Echantillon n°5 conservé dans différentes conditions.

- I à l'obscurité
- II à la lumière diffuse
- III à la lumière à Paris
- IV à la lumière, en Provence

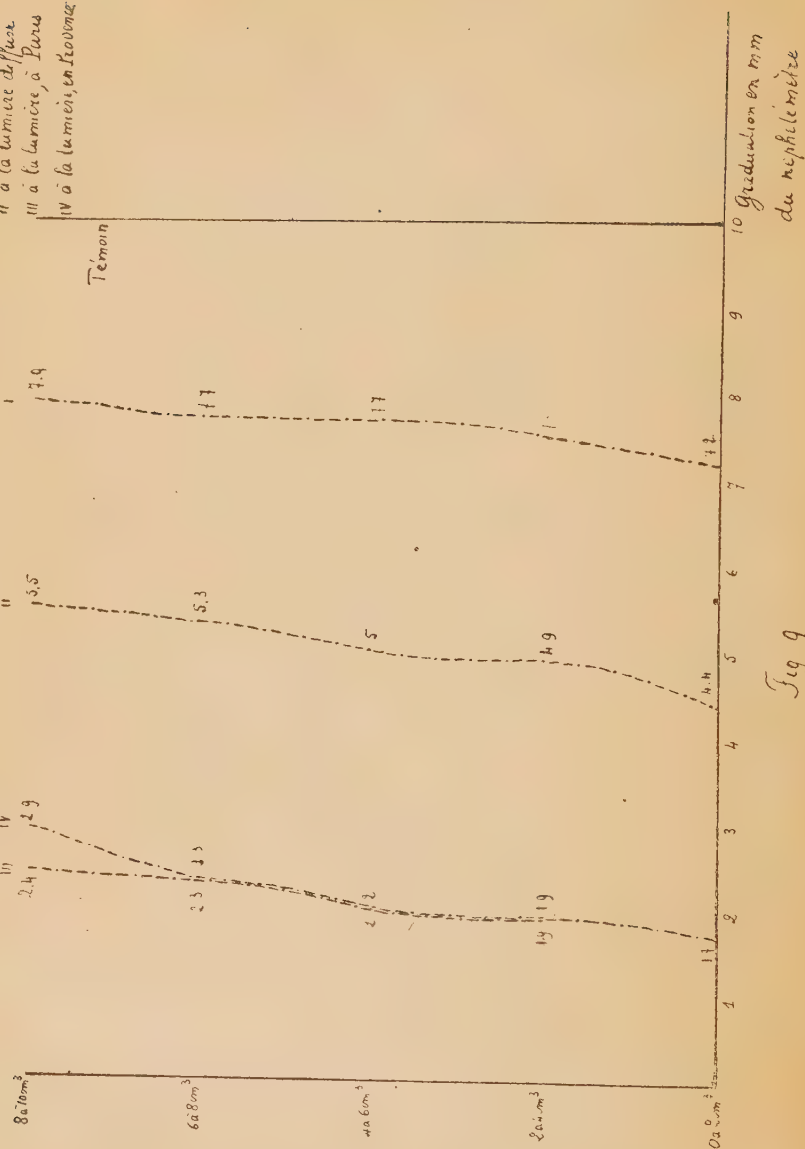


Fig 9

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1 %
 Echantillon n° 6 conservé dans différentes conditions.

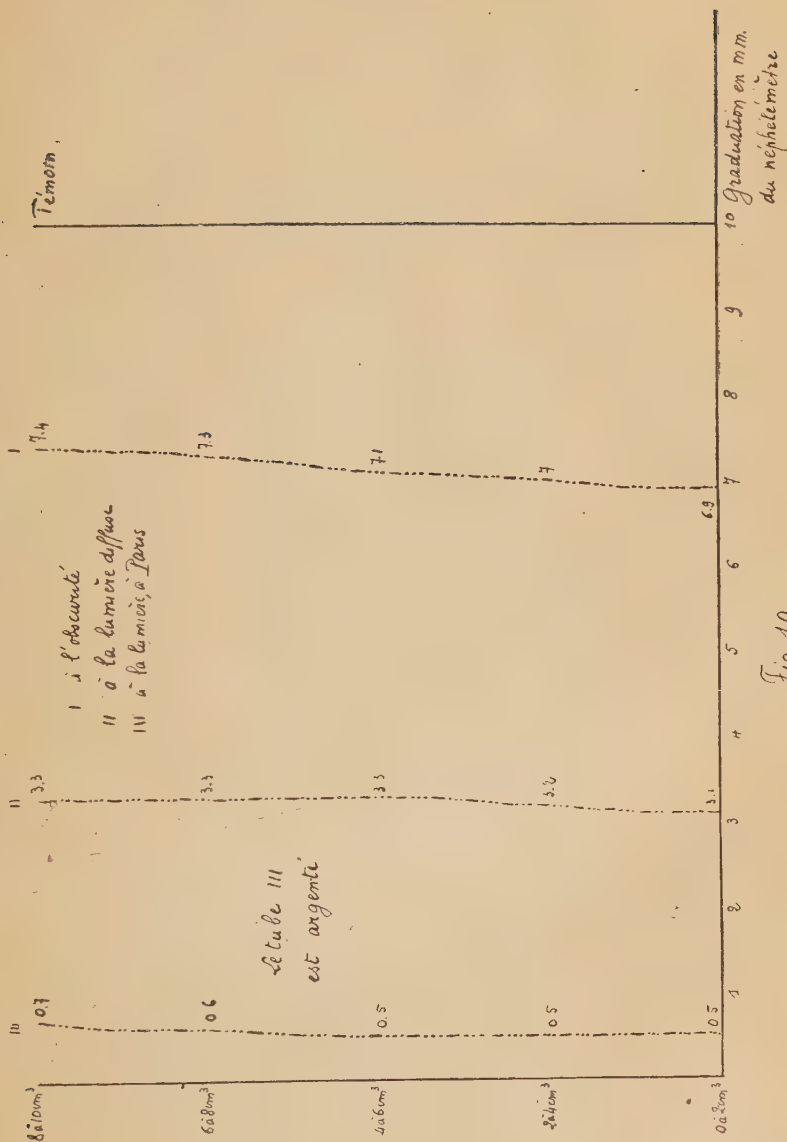


Fig 10

Influence de la lumière sur la stabilité des solutions à 1‰
Échantillon n° 4 conservé dans différentes conditions.

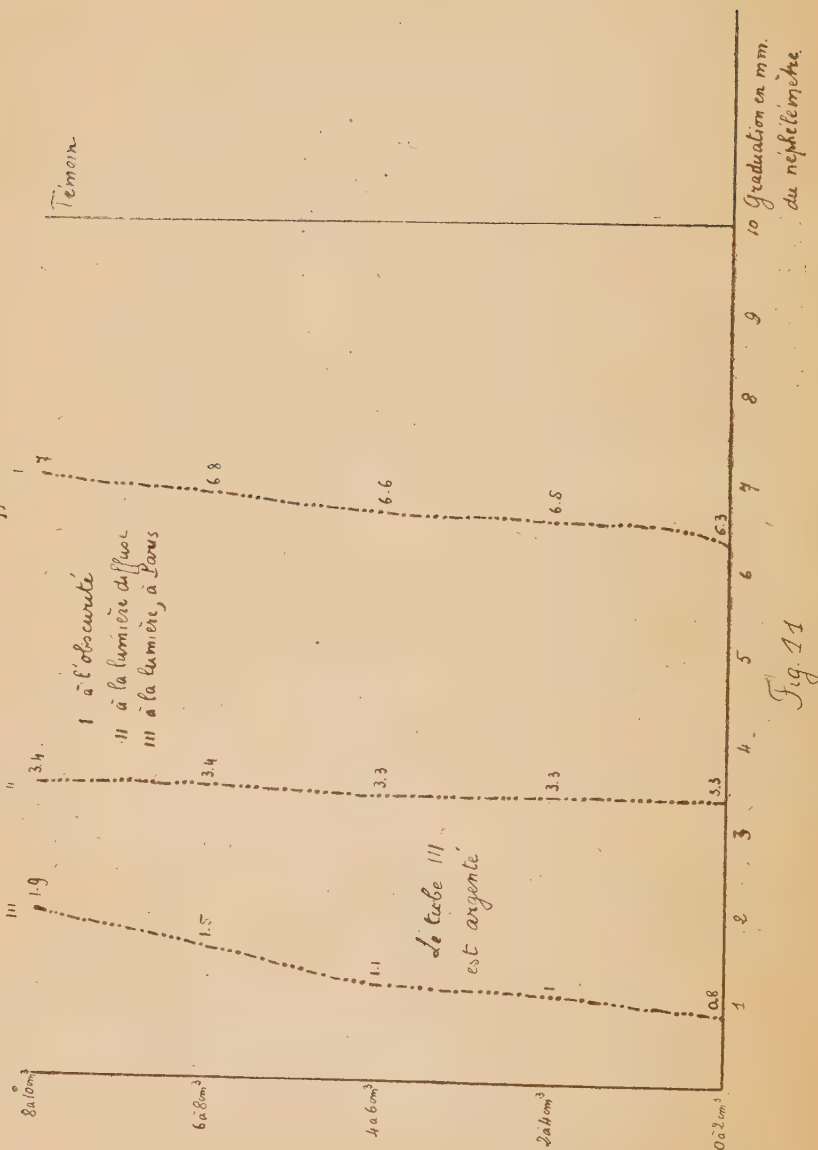


Fig. 11

CONCLUSIONS

En résumé, nous avons retracé dans le présent travail l'historique du protéinate d'argent, et nous avons insisté à ce sujet sur les indications fournies par les différentes pharmacopées.

Nous avons fait ressortir en particulier les méthodes analytiques proposées pour déterminer la composition de cette substance, ainsi que les techniques suivies pour fixer l'état colloïdal des produits commerciaux.

Dans la deuxième partie, nous avons cherché à fixer les procédés qui nous ont paru les plus favorables pour analyser les échantillons que nous avons eus à notre disposition. Nous avons procédé à ce sujet à la détermination du degré d'humidité, au dosage de l'argent et des éléments constituant les cendres (Cl, S, P, K, Na) et enfin à celui des produits constituant la partie albuminoïde (C, H, N).

La conclusion de ce travail d'ensemble qui a été l'objet de très nombreuses mesures est que les produits du commerce sont très différents les uns des autres ; ils se distinguent surtout par la nature des matières albuminoïdes mises en jeu, par la propor-

tion de cendres minérales. Le plus généralement ces cendres renferment une proportion assez élevée de carbonate de sodium. Dans un cas nous avons mis en évidence uniquement du carbonate de potassium comme produit alcalin.

Le titre en argent qui correspond à la définition même du protéinate d'argent est d'une manière générale assez constant et régulier dans les produits examinés. La proportion est voisine de 8 %.

Le protéinate d'argent donnant des solutions colloïdales, nous avons cru devoir étudier certaines propriétés de ses solutions, surtout au point de vue du nombre des particules et aussi de la stabilité des produits avec le temps.

Des différences assez notables ont ainsi été mises en évidence. Tout d'abord, l'un des produits examinés (n° 2) était incomplètement soluble dans l'eau, les autres étant parfaitement solubles. La numération des particules dans des solutions récentes à 1 % nous a permis de mettre en évidence des valeurs très voisines, intermédiaires entre $2,41 \cdot 10^{10}$ et $3,82 \cdot 10^{10}$ par cc. Ce nombre diminue progressivement avec le temps et s'abaisse dans certains cas dans des proportions considérables après quelques mois.

Cette observation nous a conduite à faire des remarques assez précises sur la stabilité des solutions. C'est ainsi que le chlorure de sodium, sous forme de sérum physiologique par exemple, exerce une action relativement rapide sur les solutions de protéinate d'argent en produisant du chlorure d'ar-

gent blanc, dont la formation s'accompagne de la disparition du caractère colloïdal.

Nous avons mis en évidence l'influence de la lumière solaire sur la décomposition des solutions de protéinate d'argent qui abandonnent des précipités, d'autant plus rapidement que la lumière est plus vive. Ces faits montrent que ces préparations doivent être conservées en flacons teintés et à l'abri des rayons solaires.

On remarque qu'une solution commence d'abord par prendre une teinte plus foncée, puis qu'elle s'éclaircit progressivement en produisant des dépôts qui ne sont plus colloïdaux. Si l'on établit une comparaison entre les produits du commerce, on observe à ce sujet des différences très accentuées : l'un (n° 2) se montre très instable ; les autres présentent des degrés variables de stabilité. D'une manière générale, la conservation est meilleure à l'obscurité, et les échantillons soumis à une vive lumière subissent une altération rapide qui s'accompagne, dans certains cas, d'un dépôt miroitant d'argent métallique sur les parois des récipients.

Si l'on rapproche d'une part les résultats des essais de conservation, et d'autre part les compositions des produits en jeu, on constate que ceux qui se conservent le mieux (n° 1, 5 et 4) donnent des cendres abondantes et très alcalines, et qu'ils renferment le plus d'eau. Au point de vue de la composition de la matière organique, celle-ci est particulièrement riche en carbone et en soufre, pauvre en

azote et en oxygène ; elle présente la réaction du tryptophane (probablement due à l'intervention de peptone pancréatique). Le n° 1 est à base de sel de potassium, et non de sodium.

Les produits les moins stables à la lumière (nos 2, 6 et 7) donnent des cendres en proportion faible, relativement peu alcalines. La proportion d'eau, éliminable par le vide, est également faible. La matière organique est pauvre en soufre, riche en azote.

En conclusion de cette enquête sur un produit très employé dans la thérapeutique et non mentionné à la pharmacopée française, il ressort que les préparations du commerce sont assez diverses, ce qui s'explique par l'absence de réglementation.

Les données d'ordre chimique que nous avons apportées ne permettent d'ailleurs pas d'élucider entièrement le problème qui les concerne. Les propriétés physiologiques devraient être également étudiées comparativement.

Vu : le Président de la thèse,
LEBEAU.

Vu : le Doyen,
RADAIS.

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris.
S. CHARLÉTY.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7

PREMIÈRE PARTIE

BIBLIOGRAPHIE

I. <i>Historique</i>	11
II. <i>Préparation</i>	14
III. <i>Propriétés</i>	23
IV. <i>Indications des pharmacopées</i>	27
V. <i>Méthodes d'analyse</i>	33
1. Recherche de l'argent minéral.....	33
2. Dosage de l'argent.....	35
3. Dosage de l'azote.....	46
VI. <i>Indications relatives à l'état colloïdal</i>	48
VII. <i>Mesures de la concentration en ions argent</i>	54

DEUXIÈME PARTIE

ANALYSES.

I. <i>Analyse des échantillons commerciaux</i>	61
A. Dosage de l'humidité.....	62
B. Analyse des cendres.....	64
1 ^o Dosage de l'argent.....	65
2 ^o Chlorure d'argent.....	68
3 ^o Soufre total.....	69
4 ^o Alcalinité.....	70
5 ^o Phosphore.....	70
6 ^o Sodium.....	71
7 ^o Potassium.....	72

• Dosage des principaux constituants de la partie albuminoïdique	74
1 ^o Dosage de l'hydrogène et du carbone.....	74
2 ^o Dosage de l'azote.....	76
Réactions analytiques.....	81
II. Numération des particules colloïdales et essais de conservation	85
1 ^o Numération des particules.....	86
2 ^o Essais de conservation des solutions.....	88
CONCLUSIONS.....	103

